

Der Einfluß von Antioxydantien und Citronensäure
als Synergisten auf chemische Umsetzungen
beim Lagern von Trockentomaten und Trockenkarotten

von
Diplom-Ingenieur
Karl-Hermann Müller
aus
Simmern (Hunsrück)

Von der Fakultät für Allgemeine Ingenieurwissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Verleihung der akademischen Würde
Doktor-Ingenieur
genehmigte Dissertation

Berlin 1963

D 83

Der Einfluß von Antioxydantien und Citronensäure
als Synergisten auf chemische Umsetzungen
beim Lagern von Trockentomaten und Trockenkarotten

von
Diplom-Ingenieur
Karl-Hermann Müller
aus
Simmern (Hunsrück)

Von der Fakultät für Allgemeine Ingenieurwissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Verleihung der akademischen Würde
Doktor-Ingenieur
genehmigte Dissertation

Berlin 1963

D 83

Berichter : Prof. Dr.-Ing. J. Schormüller

Mitberichter: Prof. Dr.rer.nat. F. Bohlmann



Eingereicht am: 24.10.63

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.63

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Problemstellung	9
C. Das Untersuchungsmaterial	10
D. Experimenteller Teil	12
I. Papierchromatographischer Nachweis von HMF im gelagerten Untersuchungsmaterial	12
II. Spektralphotometrische Bestimmung von HMF, Lycopin und Bräunung	20
III. Enzymatische Bestimmung von L(+)-Lysin	22
IV. Potentiometrische Bestimmung der Gesamtsäure	23
V. Wasserbestimmung	23
VI. Bestimmung von Vitamin-C und Reduktonen	23
1.) Extraktionsbedingungen	30
2.) Bestimmungsmethode für Gesamtreduktone	30
3.) Dünnschichtchromatographische Abtrennung der Ascorbinsäure von reduktionartigen Begleitsubstanzen	32
4.) Änderung der Zusammensetzung des Lauf- mittels	37
5.) Modelluntersuchungen mit definierten Reduktonen	38
6.) Analytischer Trennungsgang zur Simultan- bestimmung von Vitamin-C und Reduktonen in Lebensmitteltrockengemischen	42
E. Ergebnisse und Diskussion	43
F. Zusammenfassung	65
G. Literatur	67

A. Einleitung

Im Rahmen technologischer Prozesse der Gewinnung, Verarbeitung, Aufbewahrung oder Lagerung sind unsere Lebensmittel Veränderungen mannigfaltigster Art unterworfen. Eng verknüpft mit der biologischen Wertminderung der Proteinkomponente sind farbliche, geruchliche und geschmackliche Abwandlungen. Diese recht kompliziert verlaufenden Reaktionsvorgänge wurden in ihrer Bedeutung zuerst von MAILLARD [1] erkannt; seitdem hat es an erschöpfenden Darstellungen über diese nichtenzymatischen Bräunungsreaktionen nicht gefehlt. Besonderes Interesse beanspruchen einige neuere Veröffentlichungen z.B. von ELLIS [2], HEYNS [3], SPECK [4] und HODGE [5], die sich grundlegend mit dem Chemismus des Reaktionskomplexes auseinandersetzen und die bisher unabhängigen Teiltheorien aufeinander abzustimmen versuchten.

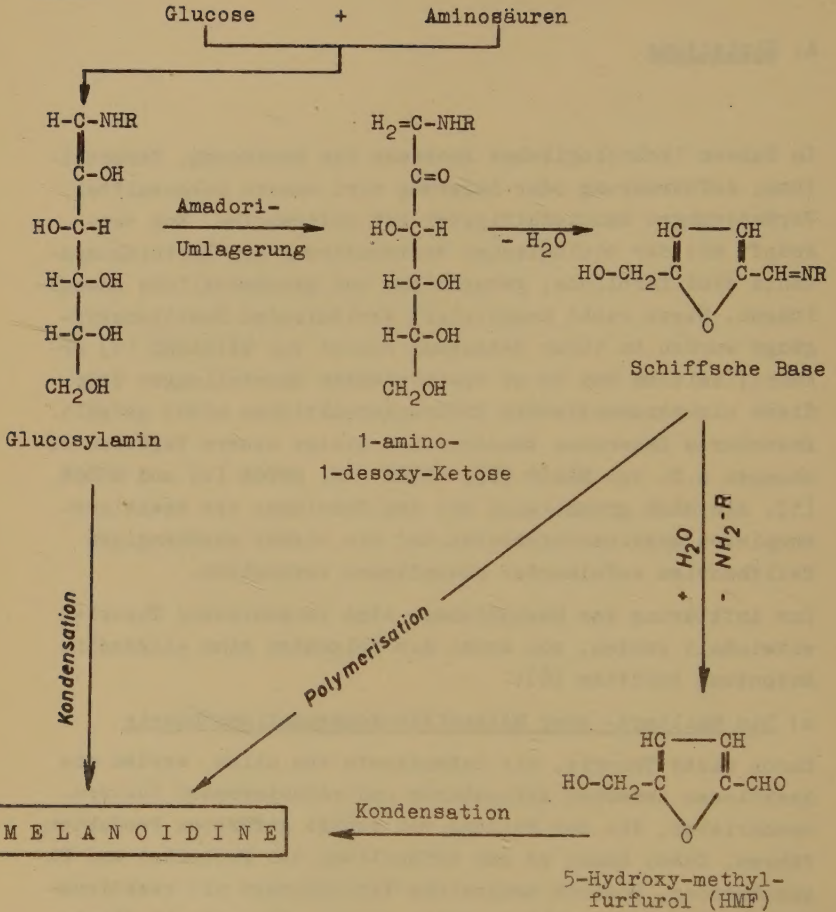
Zur Aufklärung des Mechanismus sind verschiedene Theorien entwickelt worden, von denen die folgenden eine allgemeine Bedeutung besitzen [6]:

a) Die Maillard- oder Melanoidin-Kondensationstheorie

Durch diese Theorie, die bekannteste von allen, werden die Reaktionen zwischen Aminosäuren und reduzierenden Zuckern beschrieben, die zur Bildung von dunkel gefärbten Produkten führen. Dabei kommt es zur Aufspaltung von Proteinen und Disacchariden, wodurch zahlreiche Verbindungen mit reaktionsfähigen Gruppen gebildet werden können. Eine der in diesem Zusammenhang als Intermediärprodukt am häufigsten genannten Verbindungen ist das 5-Hydroxymethylfurfurol (HMF).

Im folgenden Schaubild kann die Reaktion schematisch dargestellt werden [7]:

Abb. 1



HMF muß daher unter Umständen vor dem Auftreten der eigentlichen Bräunung als Zwischenprodukt nachweisbar werden. Die Schiffsche Base kann zu braunen Produkten polymerisieren, aber auch HMF und die Glucosylamine sind zur Bildung solcher Stoffe befähigt.

Für den ersten Schritt, mit dem die nichtenzymatische Bräu-

nung eingeleitet wird, lassen sich weitgehend konkrete Angaben machen, denn es besteht die experimentell gesicherte Ansicht, daß die Zucker mit den Aminosäuren ein Substitutionsprodukt bilden, das entweder über sein Amadori-Umlagerungsprodukt oder direkt über die Schiffsche Base des HMF in Hydroxymethylfurfurol überführt werden kann [8-12].

b) Die Ascorbinsäure-Theorie

Gemäß dieser Theorie sind die bedeutendsten Vorläufer der Bräunung Ascorbinsäure und ähnliche Verbindungen (Reduktone). Ihre Oxydation liefert reaktionsfähige Produkte, die polymerisieren können oder mit Stickstoffverbindungen der Lebensmittel braune Pigmente zu bilden vermögen. STADTMAN [6] zeigte, daß die Bräunung in Citrus-Früchten immer mit einer Zerstörung von Ascorbinsäure verbunden ist. Diese Tatsache führte zur Annahme von 2 Möglichkeiten, durch die Ascorbinsäure an der Bräunungsreaktion beteiligt ist:

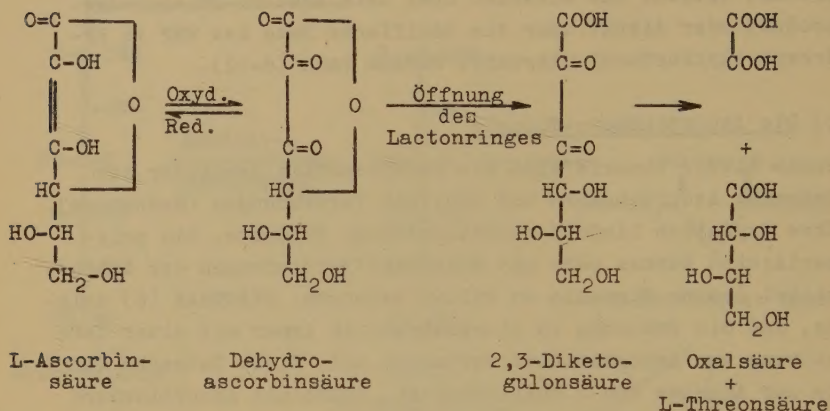
- a) Ascorbinsäure kann als Antioxydant wirken; der dadurch bevorzugte oxydative Abbau der Ascorbinsäure führt zu den Vorstufen der Bräunung bzw. bis zu dunkel gefärbten Substanzen.
- b) Die Oxydationsprodukte von Ascorbinsäure können selbst bereits unmittelbare Vorläufer von dunkel gefärbten Pigmenten sein.

So beobachteten KOPPANYI und Mitarb. [13], daß Dehydroascorbinsäure sehr schnell mit α -Aminosäuren unter Bildung von stark rotbraun gefärbten Komplexen reagiert.

DULKIN und FRIEDEMANN [14] untersuchten die Bedeutung von Dehydroascorbinsäure und Dehydroreductinsäure für die Bräunungsreaktion. Sie konnten zeigen, daß sowohl Ascorbinsäure wie auch Reductinsäure eine Art Bräunungsreaktion im sauren und abgepufferten Medium eingehen, die der bei erhitzten und gelagerten Lebensmitteln ähnlich ist. In jedem Fall stellt jedoch die vorangehende Oxydation der beiden Säuren zu ihren entsprechenden Dehydrosäuren die erforderliche Vorstufe zur Bräunung dar, wie es nachstehend veranschaulicht wird. Die Reaktion

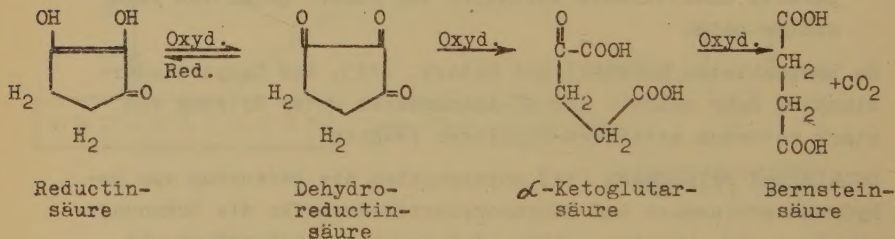
ist charakterisiert durch eine Vermehrung der Farbe, Acidität, Fluoreszenz und des Reduktionsvermögens:

Reaktionsschema I:



Dehydro-ascorbinsäure und 2,3-Diketo-gulonsäure führen zu braun gefärbten, stark fluoreszierenden Derivaten, wobei die Bräunung durch die reaktionsfähigen Carbonylgruppen verursacht wird.

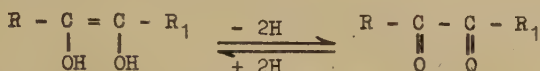
Reaktionsschema II:



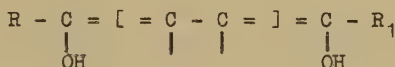
Auch Dehydro-reductinsäure ist infolge seiner 3 reaktionsfähigen Carbonylgruppen befähigt, intensiv braun gefärbte, stark fluoreszierende Derivate zu bilden.

Wie HODGE [15] zeigen konnte, ist die Bildung von Melanoidinen

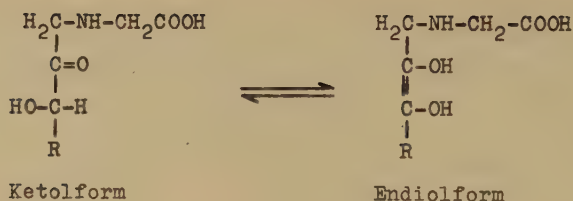
eng verknüpft mit derjenigen von Reduktonen. Unter dem Begriff "Reduktone" versteht man heute eine Stoffgruppe von organischen, biochemisch bedeutungsvollen Verbindungen, deren herausragendste gemeinsame Eigenschaft ein ausgeprägtes Reduktionsvermögen darstellt. Dieses läßt sich formal stets auf eine Dehydrierung, z.B. einer Endiol- zu einer Dicarboxylgruppe, zurückführen:



Diese beiden Verbindungstypen können als die Anfangsglieder einer vinylenhomologen Reihe folgender allgemeiner Reduktonstruktur betrachtet werden:



Zur Gruppe der Reduktone im erweiterten Sinne können jedoch auch Verbindungen wie z.B. Hydrochinon, Brenzkatechin, Maltol sowie die Zuckerreduktone gezählt werden. Es ist nämlich bekannt [16], daß α -Hydroxyaldehyde und -ketone (dazu gehören auch manche Zuckerarten) ein mehr oder weniger ausgeprägtes Reduktionsvermögen besitzen. Man hat diese Erscheinung mit einer Tautomerisierung zu Endiolen zu erklären versucht und angenommen, daß diese dann in ihrer Endiolform reduzierend wirksam wären. So gelang es DUBOURG u. Mitarb. [17], aus einem Reaktionsgemisch von Mannose und Glycin als Endprodukt der Amadori-Umlagerung N-Carboxymethylamino-1-desoxyfructose kristallin zu isolieren und seine reduzierende Wirkung durch Entfärbung von 2,6-Dichlorphenolindophenol zu bestätigen. Der tautomeren Gleichgewichtsbildung zwischen Ketoform und Endiolform des farblosen Amadori-produkts erkannten sie eine gewisse Bedeutung für die Reduktionswirkung zu:

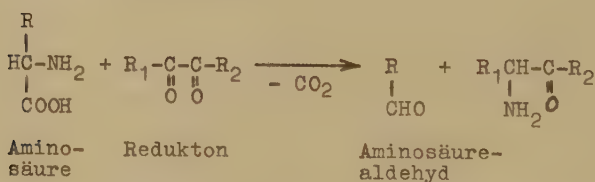


c) Die aktive Aldehyd-Theorie

In Wirklichkeit stellt diese neueste aller Theorien eine Modifikation der beiden anderen Theorien dar. Hier wird dargestellt, daß die Bräunung durch die Zersetzung von Zuckern und Zuckersäuren einerseits und die Bildung von Furfurolen oder ähnlichen Verbindungen mit aktiver Carbonylgruppe andererseits bewirkt wird. Im Endstadium können diese Produkte wiederum mit Stickstoffverbindungen zu braunen Pigmenten polymerisieren.

Nach den neueren Erkenntnissen [5] kann sich die Bildung von Furfurol und Aminosäurealdehyden neben der Dehydratisierung von Amadori-Reaktionsprodukten zu Schiffischen Basen und deren hydrolytische Spaltung (Abb. 1) etwa nach folgendem Schema vollziehen:

Abbau nach Strecker



Diese Reaktion ist in der Literatur als sogenannte Transaminierungsreaktion mit Reduktonen gedeutet worden [15].

Für die Praxis ergab sich eine vertiefte Kenntnis der Milieuabhängigkeit von nichtenzymatischen Bräunungsreaktionen durch Arbeiten, in denen die Wertminderung bestimmter Nahrungs-

mittel einerseits und die Reaktionsfähigkeit von Einzelkomponenten andererseits durch Lagerung und Erhitzen unter verschiedenen Bedingungen und durch Modifizierung entsprechender Zusatzkomponenten methodisch studiert wurden [18-27].

Die ersten noch farblosen Kondensationsprodukte von Zuckern und Aminosäuren, die N-Glykoside bzw. deren Amadori-Umlagerungsprodukte wurden von ANET und REYNOLDS [28] in gefriergetrockneten Aprikosen und Pfirsichen nachgewiesen.

Da die stickstofffreien carboxylischen Säuren sehr häufig in Nahrungsmitteln vorkommen, kann ihre Bedeutung für die Bräunung nicht übersehen werden. Durch Farbmessungen bei 400 m μ stellten LEWIS und Mitarb. [29] am System Glucose - carboxylische Säuren eine Bräunungsbildung fest, die der bei Reaktionen zwischen Aminosäuren und Glucose ähnlich ist.

Während POEL [30] die Bedeutung von Uronsäuren, Ascorbinsäure und Citronensäure als mögliche aktive Reaktionspartner neben reduzierenden Zuckern und Aminosäuren beschrieb, fanden TÄUFEL und Mitarb. [31-35] papierchromatographisch weitere Substanzen, von denen sie Oxymethylfurfurol (HMF) identifizierten. Übereinstimmend mit ENDERS nimmt TÄUFEL an, daß die Aminosäuren erst sekundär nach Umwandlung der Zucker an der Bräunung beteiligt sind. Den Abbauprodukten der Zucker wie Methylglyoxal, Dioxazeton, Acetoin, Furfurol, HMF, Lävulin- und Ameisensäure wird möglicherweise eine Beteiligung an der Reaktion zugesprochen.

Nach Untersuchungen von ENDERS [36] ist vor allem Methylglyoxal als besonders aktiver Reaktionspartner der Melanoidinreaktion anzusehen.

KOCH und Mitarb. [37] konnten zeigen, daß in frischen Apfel- und Traubensäften HMF nicht vorhanden ist. Erst bei der Verarbeitung, vor allem bei der Heißeinlagerung, entsteht es in nachweisbaren Mengen. Die Abhängigkeit der gebildeten HMF-Menge von der Erhitzungsdauer, dem Zuckergehalt und dem pH-Wert der Säfte zeigt, daß mit fallendem pH-Wert die Bildung von HMF groß wird und bei pH=3 ihr Optimum besitzt.

Das Vorkommen von HMF in vakuumgetrocknetem Vollmilchpulver

und seine Bedeutung bei der Verarbeitung und Lagerung untersuchten CRAIG und Mitarb. [38]. Sie beschrieben eine bedeutungsvolle Beziehung zwischen geschmacklicher Haltbarkeit und anfänglichem HMF-Gehalt. Die Bildung von HMF während der Trocknung wurde als eine Funktion der maximalen Trocknungstemperatur in Form der Arrheniusgleichung erkannt.

KEENEY und BASSETTE [39] empfahlen als Ergebnis ihrer Arbeiten die Bestimmung von HMF als Kriterium zur Wahrnehmung eines frühzeitigen Stadiums der nichtenzymatischen Bräunung.

Zusammenhänge zwischen Feuchtigkeit und Bräunungsbildung fanden PRUTHI und Mitarb. [40] bei Lagerungsversuchen mit Knoblauchpulver. Sie erkannten dem anfänglichen Feuchtigkeitsgehalt hinsichtlich seines Einflusses auf die Bräunungsreaktion eine besondere Bedeutung zu. Bei ihren Untersuchungen stellten sie fest, daß bis zu einer Feuchtigkeit von 17 % die Bräunungszunahme annähernd proportional ist, während sie danach nur noch langsam ansteigt. Bei 28 % H_2O -Gehalt im geprüften Material konnten sie schwarze bzw. dunkelbraune Farbpigmente erhalten. Die Bräunungsmessung der wäßrigen Extraktlösung erfolgte bei 420 m μ .

Aus der kurzen Übersicht geht hervor, daß die nichtenzymatische Bräunung durch mannigfaltige Reaktionen verursacht werden kann, wobei nach den Beobachtungen von STADTMAN [6] und TELEGDY KOVATS [41] auch chemische Veränderungen von geringem Ausmaß erhebliche Verfärbungen sowie Geruchs- und Geschmacksabweichungen hervorzurufen imstande sind. Im natürlichen Geschehen treten je nach der Wahl der Bedingungen Reaktionen ein, die mehr oder weniger die speziellen Eigenschaften der einen oder der anderen dargestellten Bildungsweise betonen.

Da kein einheitlicher Reaktionsmechanismus besteht, wird der analytische Nachweis der nichtenzymatischen Bräunung sehr erschwert. Es muß daher versucht werden, einerseits Stoffe nachzuweisen, welche vor Eintritt der eigentlichen Bräunung entstehen, aber für die Vorstufe der Reaktion spezifisch sind; andererseits ist es zweckmäßig, das Verhalten bzw. die Veränderungen von Einzelkomponenten oder von bestimmten wesentlichen Stoffgruppen im Untersuchungsmaterial zu verfolgen.

B. Problemstellung

Ausgehend von den hier erörterten Gesichtspunkten soll es Aufgabe und Ziel der vorliegenden Arbeit sein zu untersuchen, inwieweit trockene Lebensmittel, denen verschiedene gebräuchliche Antioxydantien wechselnden Gehaltes hinzugefügt worden waren, während des Zeitraumes von 1 1/2 Jahren bei einer Lagerungstemperatur von 30 °C und 70 % relativer Luftfeuchtigkeit Veränderungen im Sinne der Maillard-Reaktion erfahren haben.

Bei dem untersuchten Material handelt es sich um Trockenlebensmittel, wie sie zur Herstellung von handelsüblichen Beutel- oder Würfelsuppen Verwendung finden:

- I. Tomatenmehl 70 F (walzengetrocknet) mit 30% Weizenmehl
- II. Karottenstreifen (Kalifornische)

Analog dem Mono-natrium-glutaminat als gebräuchlichem Zusatz zu zahlreichen Lebensmitteln, besonders zu den hier in Rede stehenden Produkten, wurde den oben genannten Trockenmaterialien Lysin zugesetzt. Dabei wurde Lysin deswegen als Zusatzkomponente gewählt, weil diese Aminosäure nach vielen Angaben der Literatur besonders stark an der Maillard-Reaktion beteiligt ist [23;63-67]. Ernährungsphysiologisch spielen jedoch Lysinverluste bei den hier untersuchten, relativ lysinarmen Gemüsearten nur eine untergeordnete Rolle.

Als Antioxydantien wurden L-Ascorbinsäure (V_C), Vitamin E (V_E) und Antioxydans Roche (A_R) gewählt. In Verbindung mit Vitamin C erfolgte bei einigen Proben ein Zusatz von Citronensäure, deren Wirkung als Synergist von Antioxydantien bereits seit langem bekannt ist.

Es sollen die Veränderungen von Lysin, Ascorbinsäure, der Gesamtsäure, des Wassergehaltes und intermediär auftretender Verbindungen (HMF, Reduktone) analytisch verfolgt werden. Den zunehmenden Ansprüchen des Verbrauchers nach dem Naturprodukt möglichst nahekommenden Trockenerzeugnissen Rechnung tragend, sollen Farbveränderungen (wasserlösliche sichtbare Bräunung und Lycopin) analytisch berücksichtigt und erfaßt werden.

Die hier vorgesehenen analytischen Methoden waren darauf abgestellt, quantitative Aussagen über die gesamte, 1 1/2 Jahre dauernde Lagerzeit im Rahmen von Bilanzanalysen zu ermöglichen. Entscheidend für die Wahl der Untersuchungsverfahren war insbesondere die Forderung nach Methoden, die zuverlässige und reproduzierbare, weitgehend spezifische Serienanalysen gestatten. Soweit solche Verfahren nicht der üblichen Analytik entnommen werden konnten, wurden sie für den vorliegenden Zweck entwickelt.

Da es sich bei einem Teil des vorliegenden Untersuchungsmaterials um Produkte handelt, die infolge ihrer Zusammensetzung und technologischen Vorbehandlung für ihren Gehalt an Reduktionen bekannt sind, mußte eine Methode ausgearbeitet werden, welche eine einwandfreie Bestimmung von Ascorbinsäure neben Reduktionen ermöglicht. Gleichzeitig sollen aber auch während der Lagerung auftretende Veränderungen der Reduktionen bilanzanalytisch verfolgt werden können.

Als weitere Aufgabenstellung soll HMF als Intermediärprodukt im gelagerten Untersuchungsmaterial chromatographisch nachgewiesen werden.

C. Das Untersuchungsmaterial

Die Untersuchungen wurden an Mischungen folgender Zusammensetzung ausgeführt. Die Angabe erfolgt in Gewichtsprozenten.

I. Karottenschnitzel mit Lysin: (95% Karotten; 5% Lysin)

- 1.) Karottenschnitzel-Aminosäure, ohne weiteren Zusatz
- 2.) Ansatz 1) mit 0,5 % Vitamin E
- 3.) " " 0,5 % Antioxydants Roche
- 4.) " " 0,35 % Vitamin C
- 5.) " " 0,35 % Vit.C + 0,25 % Citronensäure
- 6.) " " 1,1 % Vitamin C
- 7.) " " 1,1 % Vit.C + 1,0 % Citronensäure

II. Tomatenmehl (70 % walzengetrocknet) mit Lysin: 95 % Tomatenmehl, 5 % Aminosäure

- 1.) Tomatenmehl-Aminosäure, ohne weiteren Zusatz
- 2.) Ansatz 1) mit 0,5 % Vitamin E
- 3.) " " 0,5 % Antioxydans Roche
- 4.) " " 0,15 % Vitamin C
- 5.) " " 0,35 % Vitamin C
- 6.) " " 1,1 % Vitamin C
- 7.) " " 0,45 % Vit.C + 0,25 % Citronensäure
- 8.) " " 1,1 % Vit.C + 1,0 % Citronensäure

Das Untersuchungsmaterial für diese Arbeit wurde von den Firmen Knorr, Heilbronn, und Hoffmann-La Roche, Grenzach, zur Verfügung gestellt. *)

Die beiden Grundkomponenten Tomatenmehl und Karottenschnitzel wurden unmittelbar vor Bereitung der Mischungen in der Conduxmühle feinpulvrig zerkleinert. Die Herstellung der Mischungen wurde in einer Kugelmühle bei mittlerer Geschwindigkeit vorgenommen. Die Mischzeit betrug jeweils 1 Stunde. Daran anschließend wurden je 50 g der Mischungen in Al-kaschierte Tüten eingewogen. Nachdem die Tüten zugeschweißt worden waren, erfolgte die Einlagerung bei +30 °C und 70 % relativer Luftfeuchtigkeit im Klimaschrank (Firma A.Teves, Frankfurt a.M.). Die maximale Lagerzeit betrug ca. 1 1/2 Jahre.

Für die Durchführung der Grundanalysen wurde jeweils eine Nullprobe von jeder Mischung bei -20 °C aufbewahrt.

Wegen der äußerst zähflüssigen bzw. wachsartigen Konsistenz der beiden Antioxydantien V_E und A_R war ein Zusatz in der gebräuchlichen Weise nicht möglich. Er konnte bei weitgehender Schonung des Grundmaterials nur in einem indirekten Verfahren erfolgen. Das zähflüssige Vitamin E wurde in Form einer Verreibung mit Weizenmehl zugefügt, während der Zusatz des wachsartigen Antioxydans Roche ebenfalls mittels Weizenmehls erfolgte, auf das eine antioxydanshaltige Azetonlösung aufgesprüht und dem das Lösungsmittel noch vor der Zugabe zur Grundmischung im Vakuum bei Normaltemperatur und unter N_2 -Begasung wieder entzogen wurde.

*) Den Firmen C.H.Knorr, Heilbronn, und Hoffmann-La Roche, Grenzach, sei für die Überlassung des Untersuchungsmaterials gedankt.

Die Lagerung der Proben bei 30 °C und 70 % rel. Luftfeuchtigkeit wurde nach folgendem Zeitplan einheitlich durchgeführt:

0 Wochen	(Kl ₀ oder O-Probe)
18 "	(Kl ₁)
40 "	(Kl ₂)
60 "	(Kl ₃)
79 "	(Kl ₄)

Sowohl für die weitere Beschreibung der Versuche als auch für die daran anschließende Diskussion sollen nachstehende Abkürzungen der Einzelkomponenten des Untersuchungsmaterials verwendet werden:

Tomatenmehl	= T	Vitamin C	= V _C
Karottenschnitzel	= K	Citronensäure	= Ci
Lysin	= L	Antioxydants Roche	= A _R
		Vitamin E	= V _E

D. Experimenteller Teil

I. Papierchromatographischer Nachweis von Hydroxymethylfurfurol in gelagerten getrockneten Karotten- und Tomatenprodukten

Von einer Untersuchungsmethode nach FRANZKE u. IWAINSKY [42] ausgehend, wurden zwei Arbeitsvorschriften entwickelt, die es ermöglichen, Hydroxymethylfurfurol (HMF) in gelagerten Trockenprodukten als Intermediärprodukt der nichtenzymatischen Bräunungsreaktion nachweisen zu können.

1.) Versuche mit Testsubstanzen

Auf Grund des hohen Konzentrationsunterschiedes zwischen den im biologischen Material enthaltenen Kohlenhydraten und dem zu erwartenden HMF war zu befürchten, daß entweder beim Auftragen der üblichen Mengen die nachweisbare Menge an HMF nicht erreicht bzw. daß bei stärkerer Anreicherung des HMF die hohen Kohlenhydratmengen eine Verschleierung des Chromatogramms und damit eine Schwärzung der Flecken zur Folge haben würden. Auf eine erwogene

Trennung des HMF von Kohlenhydraten durch Wasserdampfdestillation mußte verzichtet werden, da HMF gegenüber dem leicht wasserdampfgefährlichen Furfurol kaum noch auf diesem Wege abzutrennen ist.

Zur Ermittlung der Lage der Flecken wurde mit Testsubstanzen folgender Konzentrationen gearbeitet:

- 1) HMF (25mg/25ml wäßrige Lösung)
- 2) Glucose (500mg/20ml " ")
- 3) Fructose (" " ")
- 4) Furfurol, frisch destilliert (1000mg/100ml wäßrige Lösung)

Die Konzentrationen der einzelnen Substanzen wurden unter Berücksichtigung ihrer relativen Gewichtsverhältnisse im biologischen Material so gewählt, daß zum Nachweis einheitlich auf dem Papier jeweils 0,01 bis 0,015 ml aufgetragen werden konnten. Für die Untersuchungen wurde eine 0,1ml Pipette verwendet.

Die chromatographische Trennung wurde nach der absteigenden Methode durchgeführt. Als Papier wurde das von Schleicher & Schüll Nr.2040a und als Laufmittel ein Gemisch Butanol-Äthanol-Wasser 2:4:1 (v/v/v) benutzt. Die Laufzeit betrug 5 Stunden. Nach dem Trocknen wurde das Chromatogramm mit Resorzin-Trichloressigsäure (TCE) besprüht [43] und bei 105 °C im Trockenschrank 6-9 Minuten entwickelt. Wird diese Entwicklungszeit nicht überschritten, können noch schwach ausgeprägte Flecken des HMF durch ihre leuchtend ziegelrote Farbe gut erkannt werden, während die Flecken zusammen mit dem Papier bei zunehmender Entwicklungszeit in ein stumpfes Braun übergehen. Mehrmalige Versuche ergaben für HMF im Mittel übereinstimmende R_F -Werte: 0,815; 0,820; 0,825; 0,820.

Für Fructose konnten folgende R_F -Werte im Mittel erhalten werden: 0,401; 0,408; 0,405; 0,390; 0,394.

Da Furfurol und Glucose mit dem verwendeten Sprühmittel nicht erkannt werden konnten, wurde eine 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung (DNPH) als Sprühmittel benutzt [43]. Neben den bereits ermittelten R_F -Werten für HMF und Fructose konnte damit auch der R_F -Wert für Glucose bestimmt werden. Er liegt etwa zwischen

0,355 - 0,375. Die Schwierigkeit, die R_F -Werte für beide Monosaccharide genau festlegen zu können, beruht auf der auch in anderen Fällen häufig auftretenden "Schwanzbildung". Der R_F -Wert für Furfurol, der in diesem Zusammenhang von Interesse wäre, konnte auch unter den so veränderten Versuchsbedingungen nicht bestimmt werden. Versuche zeigten, daß Furfurol unmittelbar nach dem Auftragen und Trocknen des Papiers unter Ausbildung eines braun-gelben Fleckes mit 2,4-DNPH zu reagieren vermag. In weiteren Versuchen wurde wieder, wie oben beschrieben, verfahren. Diesmal wurden aber die getrockneten Flecken des reinen Furfurols sofort an der Startlinie durch Bestrahlen mit einer Quarzlampe auf Grund ihrer Fluoreszenz sichtbar gemacht. Dieser Vorgang wurde jeweils in Abständen von 20 min. wiederholt und ergab eine zeitliche Abnahme der Fluoreszenz, die nach spätestens 3 Stunden kaum mehr zu erkennen war. Es liegt also daher nahe anzunehmen, daß Furfurol infolge seines relativ niedrigen Siedepunktes ($Sdp = 161^\circ C$) während des Trocknens zusammen mit dem Laufmittel wegdampt. Dieser Befund ist für den Nachweis von HMF im biologischen Material nicht unwesentlich, da sonst bei ähnlichen R_F -Werten eine eindeutige Identifizierung von HMF mit gewissen Schwierigkeiten verbunden wäre. Für den Nachweis von HMF braucht daher mit einer Störung durch Furfurol nicht gerechnet zu werden.

Es ist jedoch möglich, Furfurol als 2,4-DNP-Hydrazone auf dem Papier wandern zu lassen.

2.) Untersuchungen an gelagerten trockenen Karotten- und Tomatenmischungen

Es wurden folgende Mischungen untersucht:

K + L (O-Probe)	T + L (O-Probe)
K + L (Kl_2)	T + L (Kl_2)
K + L (Kl_4)	T + L (Kl_4)

Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials:

22,5 g der jeweiligen fein pulverisierten Mischung wurden mit 175 ml H_2O versetzt; das Gemisch wurde mehrmals umgerührt und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Danach wurde

filtriert, der Rückstand nochmals mit 100 ml H_2O aufgeschlämmt und wiederum filtriert. Anschließend wurden die vereinigten wäßrigen Filtrate zweimal mit je 120 ml Äthylacetat ausgeschüttelt. Äthylacetat wurde deswegen als Extraktionsmittel gewählt, weil es den günstigsten Nernst'schen Verteilungskoeffizienten besitzt [44,45]. Die Äthylacetatextrakte wurden zum Schluß dieser Behandlung bis auf ein Volumen von ca. 10 ml im Vakuum bei $40^\circ - 45^\circ C$ eingeengt. Für den papierchromatographischen Nachweis von HMF wurden jeweils 0,015 ml der eingeengten Äthylacetatlsg. mit einer 0,1ml Pipette auf das Chromatographierpapier aufgetragen. Ansonsten wurde so verfahren, wie es bereits unter I. 1.) beschrieben worden ist.

Als Sprühmittel wurden Resorzin-TCE und 2,4-DNPH-lsg. verwendet.

a) Nachweis von HMF durch Ermittlung der R_F -Werte:

Die Nullproben beider Grundmischungen zeigten ganz schwach erkennbare Flecken, deren R_F -Werte mit denen der Testwerte für HMF übereinstimmten (0,82 - 0,835). Im Vergleich dazu zeigte das Chromatogramm bei der Untersuchung von 40 Wochen lang gelagerten Mischungen (Kl_2) wesentlich ausgeprägtere ziegelrote bzw. orangebraune Flecken, deren R_F -Werte ebenfalls zwischen 0,82 - 0,835 lagen. Die stärkste Fleckenintensität bei gleicher Versuchsführung wiesen jedoch die Chromatogramme der 79 Wochen gelagerten Proben (Kl_4) auf.

Die Fleckenstärke der gelagerten Tomatenmischungen (T+L) war im Vergleich zu der der entsprechenden Karottenmischungen besonders intensiv, ein Befund, den die quantitativen spektral-photometrischen Messungen von HMF an diesen Proben bestätigen. Monosaccharide konnten in den Äthylacetatlösungen erwartungsgemäß nicht mehr nachgewiesen werden. Zum Vergleich wurde jedoch jeweils eine Probe des wäßrigen Extraktes mitchromatographiert. Während in dieser kein HMF mehr nachgewiesen werden konnte, traten auf dem Papier Flecken mit R_F -Werten zwischen 0,35 - 0,41 auf, die den Monosacchariden zuzuordnen sind.

Um den Nachweis von HMF in den gelagerten Trockenproduktmischungen noch mehr zu sichern, wurden zwei weitere Identifizierungs-

möglichkeiten zur Bestätigung der erhaltenen Ergebnisse entwickelt und angewendet. Sie werden nachstehend beschrieben:

b) Nachweis von HMF in gelagerten Trockenproduktmischungen durch Bestimmung der Absorptionskurve im UV-Bereich:

Da die Ermittlung des R_F -Wertes allein nicht genügend beweiskräftig für die Identifizierung einer bestimmten Verbindung ist (besonders wenn der Fleck nicht scharf abgegrenzt ist), ist es zweckmäßig, andere, eindeutigere Kriterien zum Nachweis heranzuziehen.

Zu diesem Zweck wurden die Äthylacetatlösungen der jeweiligen Trockenprodukte, wie unter I. 1.) beschrieben worden ist, chromatographiert, ohne daß jedoch anschließend eine Entwicklung der Chromatogramme erfolgte. Dadurch war es möglich, die Lage der gewanderten HMF-Zonen infolge ihrer Fluoreszenz unter der Quarzlampe markieren zu können. Die entsprechende Papierfläche wurde sodann aus dem Chromatogramm streifenförmig herausgeschnitten und in einem kleinen Becherglas mit ca. 5 ml Äthylacetat bedeckt. Nachdem die Lösung ca. 30 min. unter öfterem Umschütteln sich selbst überlassen worden war, konnte die Absorptionskurve mit dem Spektralphotometer PMQ II v. Zeiss (gemessen gegen reines Äthylacetat) ermittelt werden.

Abb.2 zeigt die Kurven von chromatographierten Äthylacetat-extrakten gelagerter Tomaten- und Karottenmischungen (KL_2). Beide Kurven haben ihr Absorptionsmaximum bei 285 m μ bzw. bei 283 m μ , stimmen also mit derjenigen von reinem HMF in wäßriger Lösung überein und liefern damit einen weiteren Nachweis für die Anwesenheit von HMF in den gelagerten Trockenprodukten.

c) Nachweis von HMF in gelagerten Trockenproduktmischungen durch Ermittlung der Absorptionskurve seines 2,4-DNP-Hydrazons

Eine weitere Möglichkeit, HMF im Untersuchungsmaterial eindeutig nachweisen zu können, besteht darin, daß nach der chromatographischen Trennung von begleitenden Bestandteilen HMF durch Besprühen mit einer 2,4-DNPH-lsg. auf dem Papier in sein Hydrazon überführt werden, nach dem Trocknen eluiert und schließ-

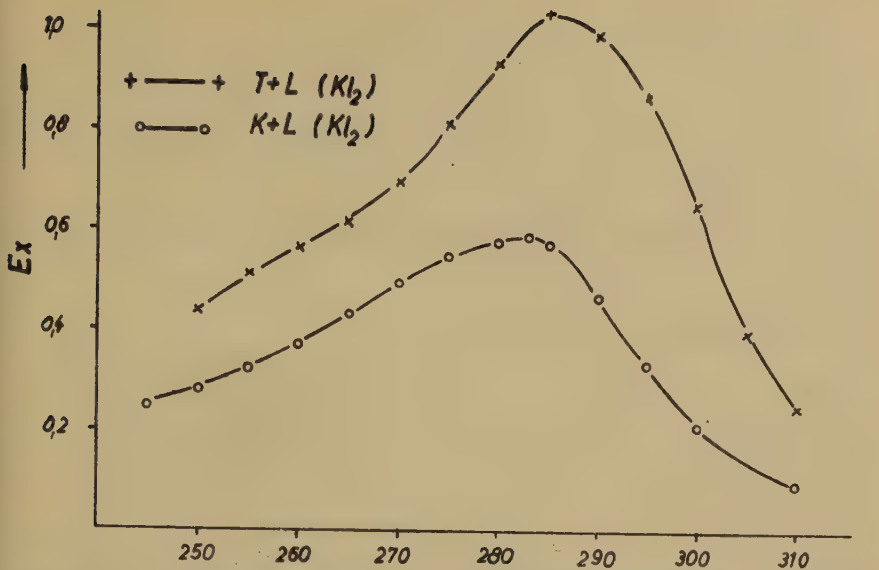


Abb. 2 Absorptionskurven von chromatographierten Äthylacetatextrakten 40 Wochen gelagerter Trockentomaten u. -karotten

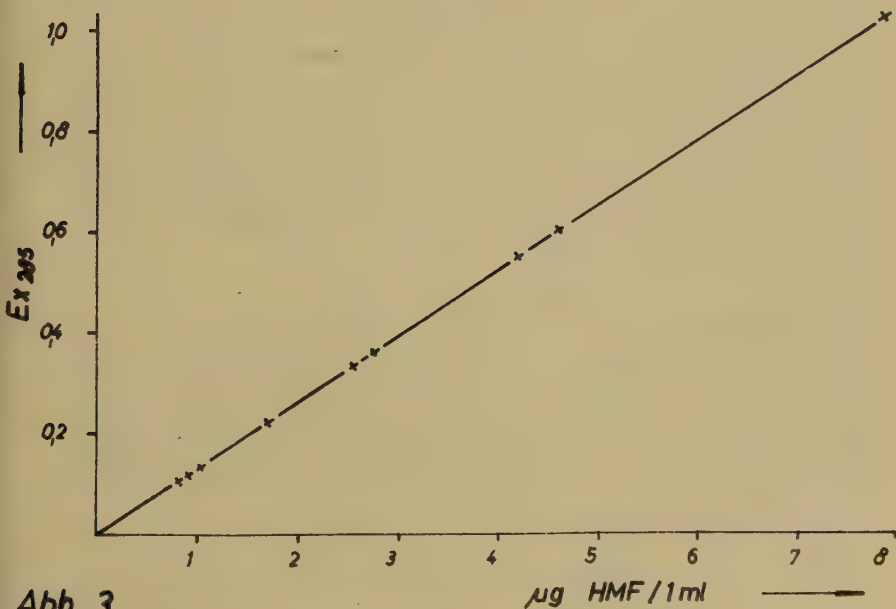


Abb. 3 Eichkurve von Hydroxy-methylfurfural

lich spektrophotometrisch gemessen werden kann.

Der Gebrauch von 2,4-DNPH als spezifisches Reagenz für Carbo-nylverbindungen ist bereits seit langer Zeit bekannt [46]. In neuerer Zeit wurde die Chromatographie zur Trennung dieser Derivate benutzt; UV-Messungen in neutraler Lösung erwiesen sich zur Identifizierung als brauchbar [47].

Als Bezugssubstanz der UV-Messungen wurde das 2,4-DNP-Hydrazon von reinem HMF dargestellt.

Herstellung des 2,4-DNP-Hydrazons von HMF

200 mg reines HMF wurden in 100 ml Äthanol gelöst und unter Rühren zu einer 2,4-DNPH-lsg. (0,4 g 2,4-DNPH wurden in 300 ml 5n HCl gelöst und filtriert) zugegeben. Das sich allmählich ausscheidende Hydrazon wurde ca. 2 Std. bei Raumtemperatur stehengelassen und über eine Nutsche filtriert. Nach dem Waschen mit alkoholischer 5n HCl und Äthanol wurde das Präparat im Exsikkator getrocknet und mehrmals mit Nitrobenzol umkristallisiert.

Ermittlung der Absorptionskurve des 2,4-DNP-Hydrazons

2,5 mg der so hergestellten Verbindung wurden in 10 ml Äthylacetat gelöst und ca. 15 min umgeschüttelt. Nach dem Filtrieren und dem Herstellen einer geeigneten Meßkonzentration wurde die Lösung gegen reines Äthylacetat als Blindwert im Spektralphotometer von Zeiss mittels 1cm-Küvetten gemessen. Abb.4 zeigt die Absorptionskurve des 2,4-DNP-Hydrazons von HMF als Testsubstanz, die für den Bereich von 240-420 m μ aufgestellt wurde und 3 Maxima (263 m μ ; 303 m μ ; 390 m μ) aufwies, wobei das letztere am ausgeprägtesten war.

Untersuchungen am gelagerten Trockenmaterial

Nach der bereits unter I. 2.) b) beschriebenen Methode wurden die Äthylacetatlösungen der betreffenden Trockenprodukte chromatographiert und das Chromatogramm mit einer 2,4-DNPH-lsg. besprüht. Die Flecken der 2,4-DNP-Hydrazone, in denen HMF zu erwarten war, wurden so aus dem Chromatogramm ausgeschnitten,

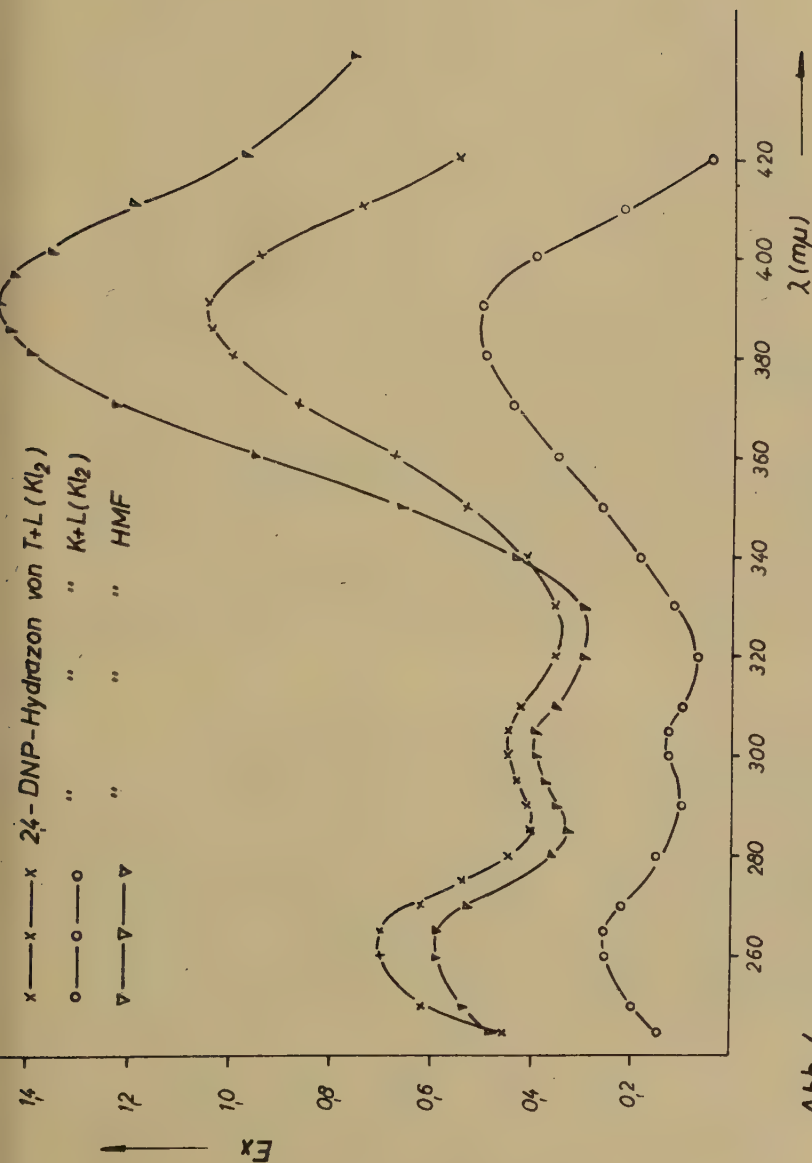


Abb. 4 Absorptionskurven der 24-DNP-Hydrazone von HMF u. chromatographierten Äthylacetatextrakten 40 Wochen gelagerter Trockentomaten u. -karotten

daß sie jeweils inmitten eines Streifens lagen, der zwischen zwei Deckgläser gelegt werden konnte und an seinem einen Ende in eine längliche Spitze überging. Die Deckgläser wurden anschließend in einer mit Äthylacetat gesättigten Kammeratmosphäre in ein mit wenig Äthylacetat gefülltes Wägegglas gestellt, damit die 2,4-DNP-Hydrazone durch die Kapillarkräfte in die Papierspitze wandern und sich dort in der äußersten Zone anreichern konnten. Es erwies sich dann als notwendig, nur die mit den braunrot-orange-farbenen Hydrazonen angereicherten Spitzen von dem übrigen Streifen zu trennen, um die Hydrazone in einem kleinen Becherglas mit wenig Äthylacetat vom Papier eluieren zu können. Wird die Spitze jedoch nicht fein genug abgetrennt, beeinflußt das Sprühreagenz, das selbst eine Absorption im UV-Bereich besitzt, die Absorptionskurve des 2,4-DNP-Hydrazons ungünstig. Es kommt also darauf an, daß die Menge des Hydrazons gegenüber der des Reagenz' im beträchtlichen Überschuß vorliegt. Eine Abtrennung des Reagenz' kann auch säulenchromatographisch an Al_2O_3 erfolgen.

In Abb.4 sind die Absorptionskurven der 2,4-DNP-Hydrazone von chromatographierten Äthylacetatextrakten gelagerter Tomaten- und Karottenmischungen (Kl_2) dargestellt. Die Messung erfolgte im Spektralphotometer von Zeiss mittels 1cm-Küvetten gegen Äthylacetat als Leerwert. Beide Kurven stimmen mit derjenigen des Hydrazons von reinem HMF überein und stützen damit den Nachweis von HMF in den gelagerten Karotten- und Tomatenmischungen.

II. Quantitative spektralphotometrische Bestimmung von 5-Hydroxy-methyl-furfurol, Lycopin und Bräunung

Die analytische Bestimmung von HMF, Lycopin und der sichtbaren wasserlöslichen Bräunung erfolgte nach einer bereits von SCHOR-MÜLLER, ANDRÄSS, LANGE u. MÜLLER [48] beschriebenen Arbeitsvorschrift. In den Abb.3,5,6 sind die entsprechenden Eichkurven dargestellt, die im Spektralphotometer PMQ II v. Zeiss mittels 1cm-Küvetten gegen Wasser bzw. Aceton als Leerwert gemessen worden sind.

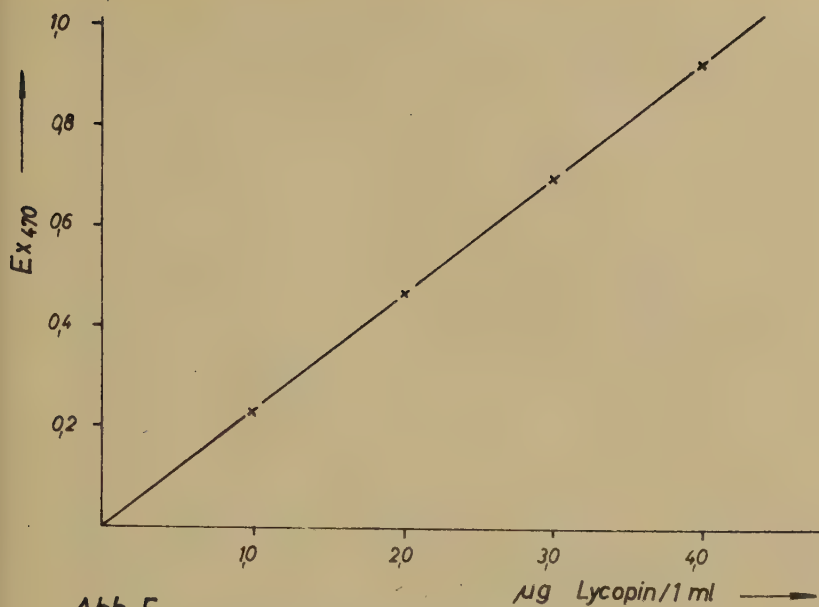


Abb. 5

Eichkurve von Lycopodium

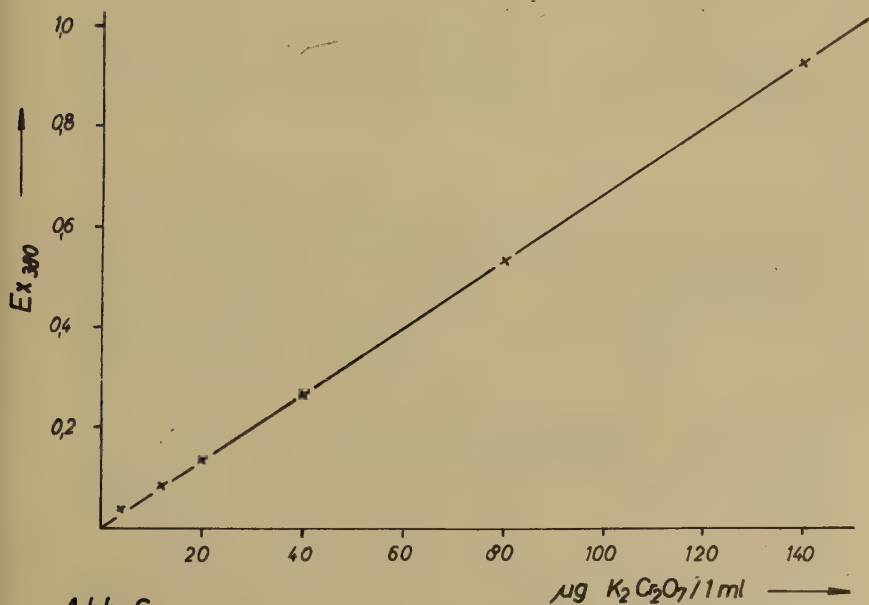


Abb. 6

Eichkurve für die wasserlösliche Bräunung

Die Meßergebnisse sind in mg Untersuchungskomponente pro 100 g Trockensubstanz (TS) angegeben. Als Maß für die Bräunungsintensität diente die bei 380 m μ ermittelte Extinktion, die außerdem an Hand einer Eichkurve auf mg K₂Cr₂O₇/100g TS umgerechnet wurde. Versuche, an Stelle der Dichromatlösung eine bei anderen Farbvergleichen oft dienliche Jodlösung zur Messung der Farbtintensität heranzuziehen, verliefen wenig erfolgversprechend. Jodlösungen verschiedener Konzentration gehorchen nicht dem Lambert-Beerschen Gesetz. Der die Messung von HMF im UV-Bereich störende Einfluß von Vitamin C infolge seiner eigenen Absorption bei 285 m μ wurde bei der Auswertung der Versuchsergebnisse entsprechend in Rechnung gestellt.

III. Enzymatische Bestimmung von L(+)-Lysin

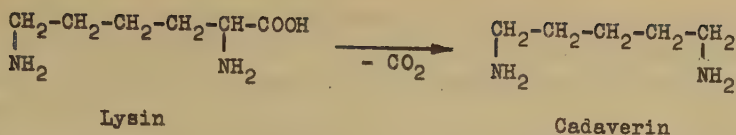
Zur Bestimmung dieser Aminosäure diente spezifische, auf die L-Form eingestellte Lysin-decarboxylase, welche in Anlehnung an GALE [49] aus einer Bacterium-Cadaveris-Kultur Nr.6578 nach einem modifizierten Verfahren [48] gewonnen wurde. An gleicher Stelle ist auch die der Untersuchung zugrunde liegende Arbeitsvorschrift angegeben.

Wie die Ermittlung der Fermentaktivität ergab (Tabelle 1), vermögen 10 mg des Trockenpräparates im üblichen Ansatz nach 40 min. bis zu 538 μ g L(+)-Lysindihydrochlorid zu decarboxylieren.

Tabelle 1

Zeit [min]	Ansatz: 10 mg Lysin-decarboxylase						
	5	10	15	20	25	30	40
Entwickeltes	25,0	56,0	88,0	97,0	105,5	107,5	109,5
CO ₂	23,5	55,0	83,5	95,5	102,5	107,0	109,5
[μ l]	21,5		86,0		103,5		110,0

Prinzip der Decarboxylierungsreaktion:



Das abgespaltene CO₂ wurde in der Warburg-Apparatur gemessen.

IV. Potentiometrische Bestimmung der Gesamtsäure

Die bereits früher ausführlich beschriebene Bestimmung der Gesamtsäure [50] erfolgte mit dem "Automatischen Titrator" (Modell K der Firma Beckman).

Abb.7 zeigt an Karottenmischungen mit und ohne Vitamin C-Zusatz, daß bei einer Lösungsdauer von 1 Std. die Titration mit $\frac{n}{100}$ NaOH erst nach 2 1/2 Std. konstante Meßwerte lieferte. Konstante Meßergebnisse konnten jedoch sofort nach Beginn der Messungen erhalten werden, wenn die anfangs 35° - 40 °C warme wäßrige Suspension mindestens 2 Std. stehengelassen wird, ehe die bereits beschriebene Weiterbehandlung im Analysengang erfolgt (Abb.8).

Als Untersuchungsmaterial wurde hierfür die Grundmischung von Karotten mit Lysin (Kl₀) gewählt.

Für die Trockentomaten enthaltenden Mischungen gelten die gleichen genannten Analysenbedingungen.

V. Bestimmung des Wassergehaltes

1 g Analysensubstanz wurde in flachen Wägegläschen eingewogen und genau 1 Std. bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet.

Alle Analysenergebnisse wurden auf das Trockengewicht (TS) der jeweiligen Einwaage bezogen.

VI. Bestimmung von Vitamin-C und Reduktionen

Die Wahl einer geeigneten Bestimmungsmethode für Ascorbinsäure bereitete insofern Schwierigkeiten, als es bis jetzt noch nicht

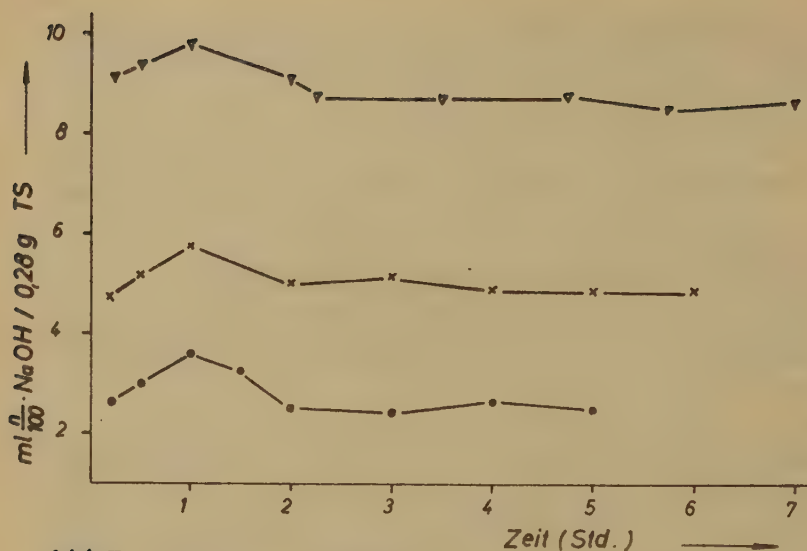


Abb. 7 Titrations-Zeit-Kurve

Bestimmung der Gesamtsäure in Trockengemischen bei 1 Std. Lösungszeit, gemessen mit dem Automat. Titrator (Fa. Beckman)

∇ — ∇ — ∇ K+L+1,1 Vc+1,0 Ci (KI₂)
 x — x — x K+L+1,1 Vc (O-Pr.)
 • — • — • K+L (O-Pr.)

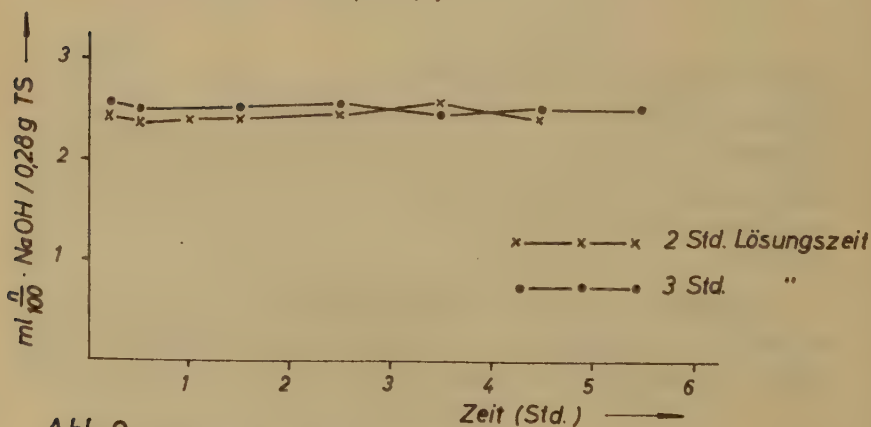


Abb. 8 Titrations-Zeit-Kurve

Bestimmung der Gesamtsäure in der Mischung K+L(O-Pr.) mit dem Automat. Titrator (Beckman)

gelingen ist, ein Bestimmungsverfahren zu finden, das allen Ansprüchen beim Arbeiten besonders mit reduktionhaltigem Material hinsichtlich Spezifität, Genauigkeit und Einfachheit genügt.

In der Literatur des Vitamin-C ist vielfach das Phänomen eines durch Reduktionbildung hervorgerufenen scheinbaren Vitaminanstiegs beschrieben worden, der sich bei verschiedenen Nachprüfungen im Tierversuch als antiskorbutisch unwirksam erwiesen hat.

Gerade die Gruppe der Reduktone, eine Stoffgruppe von Nichtzuckern mit reduzierenden Eigenschaften und gelbbraunem bis braunschwarzem Aussehen, bildet wegen ihrer ähnlichen Reaktionsweise große Schwierigkeiten bei der Bestimmung von Vitamin-C. So fanden SABALITSCHKA und MARGGRAFF [51] in Trockenprodukten, die für ihren Reduktongehalt bekannt sind, jeweils höhere Vitamin-C-Werte, als sie zu erwarten hatten.

Da es sich bei dem überwiegenden Teil des vorliegenden Untersuchungsmaterials um solche Proben handelt, denen einerseits Ascorbinsäure unterschiedlicher Mengen zugesetzt worden war, die aber andererseits infolge ihrer technologischen Vorbehandlung für ihren Eigengehalt an Reduktonen bekannt sind (z.B. Trockentomaten), ergab sich zwangsläufig die Forderung nach einer analytischen Verfahrensweise, die es ermöglicht, sowohl Ascorbinsäure als auch die Gruppe der verbleibenden Reduktone mit hinreichend zuverlässiger Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bestimmen zu können. Wenn im folgenden von "Reduktonen" gesprochen wird, so sollen auch die aus Zucker entstandenen reduzierenden Stoffe gemeint sein, die ja nach einer Tautomerisierung zu Endiolen ebenfalls unter diesen Begriff fallen [16] und deren Melanoidinstruktur wahrscheinlich ist [5,15].

Im Rahmen der Untersuchungen über die Veränderungen, die Ascorbinsäure und Reduktone während der Lagerung in den genannten Trockenprodukten vermutlich erleiden, soll durch eine spezifisch auf Ascorbinsäure abgestellte Bestimmungsmethode diese analytisch direkt ermittelt werden. Die Gruppe der verbleibenden, antiskorbutisch unwirksamen Reduktone (die weiter-

hin unter dem Sammelbegriff "Reduktone" zusammengefaßt werden soll) kann dann nach einem der zahlreichen Verfahren, die summarisch Reduktone neben Ascorbinsäure miterfassen, durch Differenzbildung bestimmt werden. Als Gesamtreduktone soll die Summe aller Reduktone einschließlich der Ascorbinsäure verstanden werden.

Aus der Fülle der in der Literatur beschriebenen Methoden wurden zwei ausgewählt, die für die Untersuchungen zunächst besonders geeignet erschienen:

- a) Die Bestimmung von Ascorbinsäure mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin
- b) Die Bestimmung der Gesamtreduktone mit KBrO_3

So wurde in den Gang der Arbeiten die Bestimmung von Vitamin-C mittels 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH-Methode) aufgenommen [52], weil im Vergleich zu den Oxydoreduktionsmethoden der störende Einfluß von reduzierenden Fremdstoffen bei den Farbstoffkondensationsverfahren wesentlich geringer sein soll. Die meisten Begleitstoffe sollen nämlich nicht in der Lage sein, Osazone zu bilden. Nach Angaben von FUJITA und IWATAKE [53] soll die Farbtintensität der Osazone von Reduktionen 20mal schwächer gegenüber den von Dehydroascorbinsäure (bzw. Diketogulonsäure) sein. Im Gegensatz dazu war bei der zweiten von uns anfangs benutzten Methode (Titration von Ascorbinsäure mittels $n/1000 \text{ KBrO}_3$, KJ und Stärke) die Fähigkeit, reduktionartige Substanzen neben Vitamin-C mitzuerfassen, wesentlich größer [54] (Tabelle 2). Als weitere Methode stand noch die wohl gebräuchlichste und klassischste aller Vitamin-C-Bestimmungsmethoden, nämlich die Titration mit 2,6-Dichlorphenolindophenol (2,6-DiP-Methode), zur Verfügung [55].

Für die Klärung der sich ergebenden Fragen wurden in Modellversuchen Reduktone definierter Zusammensetzung verwendet. Neben dem von HODGE [56] beschriebenen Piperidino-glucose-reduktion (PHR) wurde das Morpholino-hexose-reduktion (MHR) präparativ dargestellt.

In Tabelle 2 sind die Prozentgehalte angegeben, mit denen die

genannten Reduktone durch die Bromat-Methode und 2,6-DiP-Methode erfaßt wurden:

Tabelle 2:

Methoden	% Redukton wiedergefunden		
	PHR	MHR	L-Ascorbinsäure
Bromat-Methode	93,5	95,6	99,0
2,6-DiP-Methode	94,0	94,9	97,0 - 99,5

Als Folgerung dieser Untersuchungen an Modells-substanzen ergab sich, daß auf die Verwendung der 2,6-DiP-Methode verzichtet werden konnte, da, wie Tabelle 2 zeigt, die Bromat-Methode als Oxydoreduktionsmethode ein gleiches Erfassungsvermögen gegenüber Reduktonen besitzt. Darüber hinaus hat die letztere Methode einige wesentliche anwendungstechnische Vorteile (direkte Titration, schnelle und wenig umständliche Handhabung, größere Titerbeständigkeit, besseres Erkennungsvermögen des Umschlagpunktes), weswegen sie gegenüber der klassischen Methode von Tillmans hier vorgezogen wurde.

Obwohl es als experimentell sicher galt, daß die Bromat-Methode neben Ascorbinsäure die Gruppe der Reduktone miterfaßt (Tabelle 2), mußte doch bald auf ihre weitere Anwendung verzichtet werden, da infolge der stark braunen wäßrigen Extrakte lange gelagerter Proben eine Indikatoränderung am Äquivalenzpunkt nicht mehr zu erkennen war.

Hinzu kam, daß die Hoffnung, mit der 2,4-DNPH-Methode ein spezifisch auf die Ascorbinsäure-Analytik ausgerichtetes Bestimmungsverfahren gewählt zu haben, nicht erfüllt wurde. Versuche an reduktionhaltigen Trockenprodukten ergaben, wie die Abbildungen 10;11 zeigen, im Rahmen der Fehlertoleranz von $\pm 3,0\%$ übereinstimmende Werte, wobei die mit der Bromat-Methode erzielten Werte jeweils bis zu 6 % höher lagen. Die verwendeten Tomatenproben haben einen Eigenreduktongehalt von 105 mg/100g TS (berechnet als Ascorbinsäure). Daraus kann mit Sicherheit abgeleitet werden, daß auch die 2,4-DNPH-Methode neben Ascorbinsäure und seiner Dehydroform Reduktone mitzuerfassen vermag.

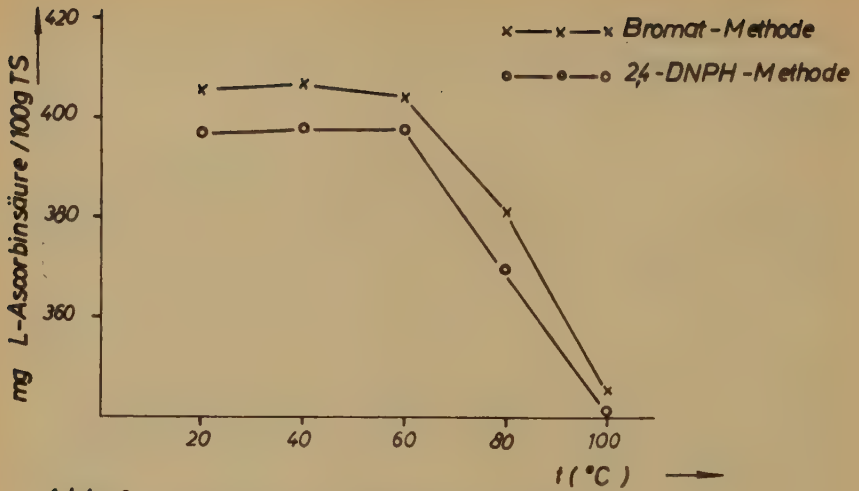


Abb. 9

Extraktions-Temperatur-Kurve

mittels 5% iger HPO_3 an der Mischung K+L+0,4% V₆ (Klo)
Extraktionszeit 20 min.

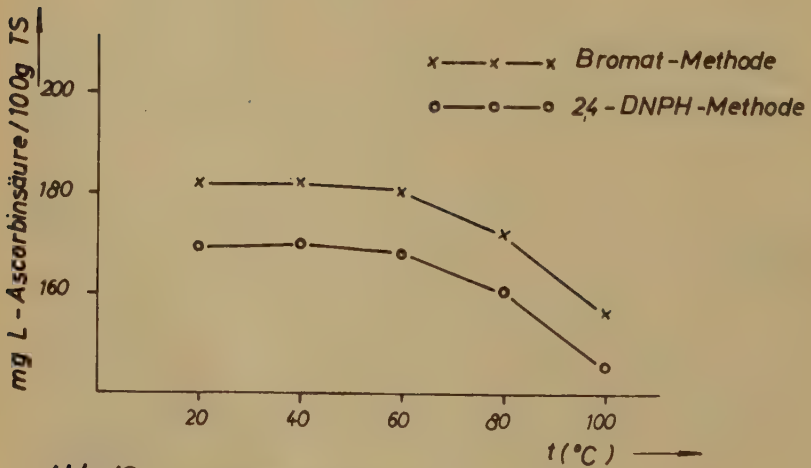


Abb. 10

Extraktions-Temperatur-Kurve

mittels 5% HPO_3 an der Mischung T+L (Klo)
Extraktionszeit 20 min.

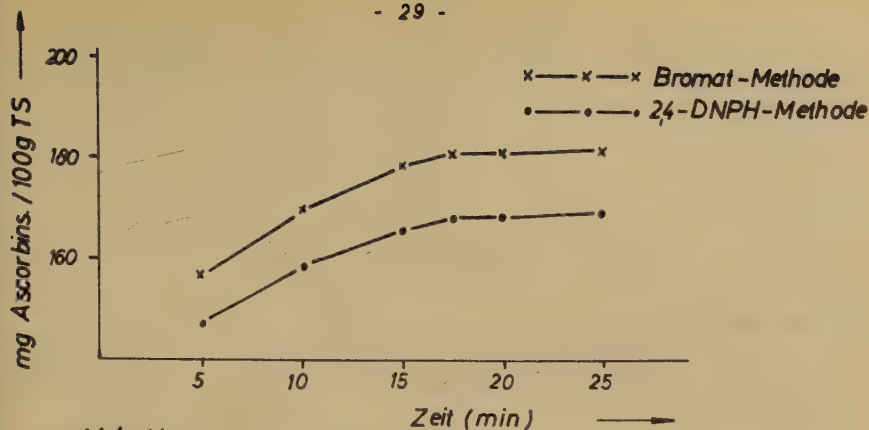


Abb. 11

Extraktions - Zeit - Kurve

mittels 5% iger HPO_3 an der Mischung T+L (O-P)

Extraktionstemperatur 40°C

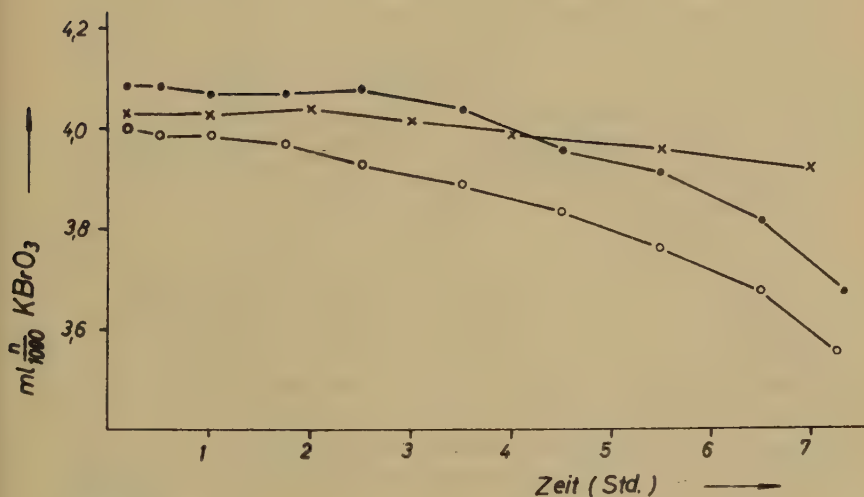


Abb. 12

Titrationsskurve

Veränderungen der Gesamt-Reduktone an 3 Proben
der Mischung K+L+11% Vc + 10% Ci (KI_2)

x — x — x N_2 -Atmosphäre

• — • — • O_2 -Atmosphäre

○ — ○ — ○ O_2 -Atmosphäre

Diese Methode wurde deshalb für die Bestimmung des Gehaltes an Gesamt-Reduktionen in den gelagerten Proben herangezogen.

1.) Ermittlung der optimalen Extraktionsbedingungen

Nach Angaben der Literatur hängt die Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Vitamin-C in Lebensmittelmischungen außer von der Stabilisierung von den Extraktionsbedingungen ab. Es wurden daher Versuche mit 5%iger HPO_3 -Lösung als Extraktionsmittel in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur durchgeführt. Wie Abb.9 und 10 zeigen, konnten an zwei verschiedenen Mischungen bis zu einer Extraktionstemperatur von annähernd 60°C reproduzierbare Ergebnisse erhalten werden. Oberhalb 60°C setzte ein bedeutender Reduktonabfall ein, der bei 100°C sein Maximum erreicht. Als Extraktionstemperatur wurde deshalb das Intervall $37 - 42^\circ\text{C}$ gewählt; unter Berücksichtigung der Extraktions-Zeit-Kurven in Abb.11 ergibt sich eine Mindestextraktionszeit von 15 min..

Aus Abb.12 ist der Verlust von Vitamin-C im vitaminisierten Trockengemisch von Karotten und Lysin unter Citronensäurezusatz als Funktion der Zeit ersichtlich. Zwei Proben verschiedener Einwaage wiesen in einer 5%igen HPO_3 -lsg. nach ca. 7 Std. einen deutlichen Abfall von 8,4 % und 9,7 % Vitamin-C auf. Deshalb müssen, wenn die Proben nicht unter einer N_2 -Atmosphäre aufbewahrt werden können (wo der Verlust vergleichsweise nur 2,5 % betrug), die Bestimmungen innerhalb kürzester Zeit ausgeführt werden.

2.) Bestimmung der Gesamt-Reduktone mittels der 2,4-DNPH-Methode

Das Prinzip dieser Bestimmungsmethode ist bereits von P. GYÖRGYI [57], M.M. MARSH [58], F. GSTIRNER [59], W. HAUSHEER [60] und J.H. ROE [52] beschrieben worden und beruht darauf, daß die aus dem Untersuchungsmaterial mit Metaphosphorsäure extrahierte Ascorbinsäure mit Brom zu Dehydro-ascorbinsäure oxydiert wird. Nach Zugabe von 2,4-Dinitrophenylhydrazin wird die gebildete orange-rot gefärbte Verbindung photometrisch

bestimmt. Durch die im folgenden Abschnitt beschriebene Methode wird neben Ascorbinsäure etwa vorliegende Dehydro-ascorbinsäure miterfaßt.

Arbeitsweise:

1,0 - 3,0 g Substanz je nach dem Gehalt an Vitamin-C wurden in einem Erlenmeyerkolben genau eingewogen, mit ca. 80 ml 35° bis 40° warmer 5%iger Metaphosphorsäure, die unmittelbar vorher aus einer 10%igen Lösung bereitet worden war, versetzt und 20 Minuten in einer N₂-Atmosphäre auf einem 37-42 °C warmen Wasserbad unter mehrmaligem Schütteln gehalten. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung derart mit 5%iger Metaphosphorsäure verdünnt, daß die Konzentration an Vitamin-C ca. 30-50 µg/ml betrug. Es wurde durch ein Faltenfilter filtriert, 50 ml des Filtrats wurden sodann in einem 100ml Meßkolben mit wenig Brom bis zu bleibender Gelbfärbung versetzt; das überschüssige Brom wurde ca. 30 min. lang durch Einleiten eines N₂-Stromes abgetrieben. Zur vollständigen Entfernung noch etwa vorhandenen Broms wurde anschließend mit 1%iger Thioharnstofflösung bis zur Eichmarke aufgefüllt.

Jeweils 5 ml der so vorbehandelten Lösung wurden in mindestens vier Reagenzgläser pipettiert, wobei eines als Leerwert diente. Die anderen wurden mit je 1 ml 2,4-DNPH-Lösung (1g 2,4-DNPH in 50ml 86,5%iger H₂SO₄ gelöst) versetzt, gut durchmischt und unmittelbar anschließend 3 Std. bei 37 °C im Brutschrank stengelassen. Während dieser Zeit verblieben die Leerwerte bei Raumtemperatur.

Nach der Inkubationszeit wurden die drei Reagenzgläser zusammen mit dem Leerwert sofort in ein Eisbad gebracht, dort ca. 15 Minuten belassen und danach tropfenweise mit je 5 ml 86,5%iger H₂SO₄ versetzt. Zum Schluß wurde zu den Leerwerten jeweils 1 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung langsam hinzugefügt und alle Ansätze nach gutem Durchmischen ca. 30 min. bei Zimmertemperatur stengelassen.

Anschließend wurden die orange-rot gefärbten Lösungen im Spektralphotometer (Zeiss) bei 525 m μ (dem Absorptionsmaximum für 2,4-DNP-Hydrazone von Dehydro-ascorbinsäure) in 1cm-Küvetten gemessen.

Der Berechnung der Gesamt-Reduktone liegt eine mit L-Ascorbinsäure aufgestellte Eichgerade (Abb.13) zugrunde. Die rechnerische Angabe erfolgte jeweils als mg Ascorbinsäure pro 100 g TS (Trockensubstanz).

$$x \text{ mg Asc.}/100\text{g TS} = \frac{\text{Ex}_{525} \cdot F \cdot V \cdot 100}{E}$$

Ex₅₂₅: Bei 525 m μ gemessene Extinktion

F : 0,0277 mg/1ml, durch die Eichgerade ermittelter Faktor

V : Verdünnungsfaktor

E : Einwaage in Gramm

3.) Analysenverfahren zur Bestimmung von Vitamin-C neben reduktionartigen Begleitsubstanzen

STROHECKER JUN. und Mitarb. [61] beschrieben ein Verfahren, Vitamin-C neben löslichen Kohlenhydraten nach dünnschichtchromatographischer Trennung zu bestimmen. Das Prinzip der Methode beruht darauf, daß Ascorbinsäure, durch Oxydation mit 2,6-DiP-Lösung in seine Dehydroform übergeführt, nach Reaktion mit 2,4-DNPH als Hydrazon chromatographiert und durch seine spezifische Wanderungsgeschwindigkeit von begleitenden Hydrazonen getrennt werden kann.

Das Chromatogramm ergab jedoch bei den Arbeiten mit dieser Methode, obgleich mit analysenreiner L-Ascorbinsäure (Fa. Merck u. Fa. Hoffmann-La Roche) als Testsubstanz gearbeitet wurde, überraschend zwei verschiedene Zonen: eine schnell wandernde gelbe ($R_F = 0,67$) und eine langsam wandernde ziegelrote ($R_F = 0,17$). [Äthylacetat/Chloroform 1:1 (v/v) als Laufmittel.] Wie Abb.14 zeigt, weist die Absorptionskurve des schwefelsauren Eluats der ziegelroten Zone ($R_F = 0,17$) das für das 2,4-DNP-Hydrazon von Dehydro-ascorbinsäure (DHA) typische Absorptionsmaximum von 522 m μ auf, während diejenige des Eluats der gelben Zone völlig andere Charakteristica erkennen läßt (Abb.15). Die Verfasser [61] erwähnen jedoch diese Erscheinung nicht.

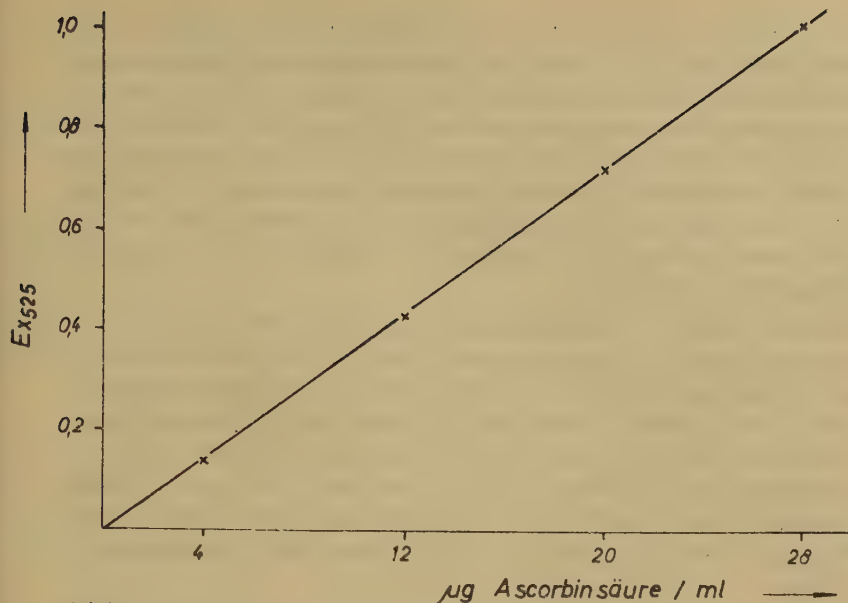


Abb. 13

Eichkurve für Bestimmung der Gesamt-Reduktone mittels 2,4-DNPH-Methode bei 525 $m\mu$ und 1 cm-Küvetten. Spektralphotom. (Zeiss)

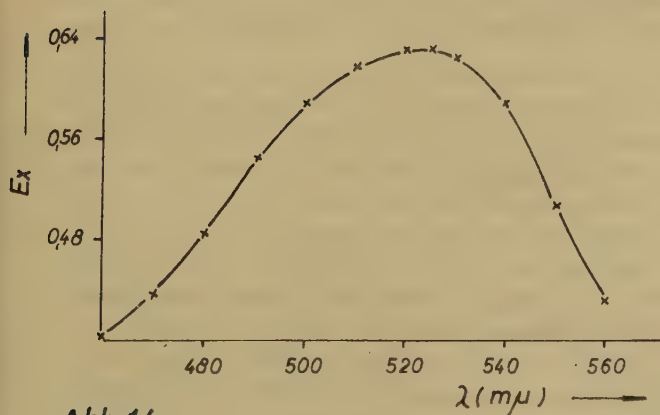


Abb. 14

Absorptionskurve des 2,4-DNP-Hydrazone von Dehydro-Ascorbinsäure (oxydiert mit 2,6-DIP) nach DS-chromat. Trennung. Rote Zone: $R_F = 0,17$

Da die Methode der spezifischen Bestimmung von Vitamin-C nach Oxydation mit 2,6-DiP und dünnschichtchromatographischer Trennung von etwa begleitenden Fremd-Hydrazonen wegen des beschriebenen Phänomens besonders bei geringen Vitamin-C-Gehalten keine gut reproduzierbaren Werte lieferte (gelbe und rote Form liegen anscheinend in einem konzentrationsabhängigen Gleichgewicht vor) und die alleinige Auswertung der roten Zone für die Bestimmung zu wenig exakt erscheint, mußte eine andere Möglichkeit gefunden werden:

Versuche mit Brom als Oxydationsmittel verliefen wesentlich erfolgreicher. Die Chromatographie der 2,4-DNP-Hydrzone der auf diesem Wege hergestellten DHA ergaben nur einen einzigen Fleck, der in Farbe (Ziegelrot), R_F -Wert ($=0,17$) und Absorptionskurve ($\lambda_{\text{Max.}} = 522 \text{ m}\mu$) mit der vorher beschriebenen roten Zone übereinstimmt. Nach entsprechender Änderung konnte folgende Arbeitsvorschrift für die Ascorbinsäure-Analytik mit Erfolg bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial angewendet werden.

Arbeitsvorschrift zur dünnschichtchromatographischen Bestimmung von Ascorbinsäure nach der Brom-Oxydation (DSC-Methode)

Hinsichtlich der Extraktion aus dem Trockenmaterial und der Vorbehandlung der Lösung bis zur Dehydro-ascorbinsäure in einer 1%igen Thioharnstofflösung gelten die bereits in der Arbeitsvorschrift für die 2,4-DNPH-Methode (VI,2) genannten Bedingungen.

Jeweils 5 ml der so vorbehandelten Untersuchungslösung wurden in ein Reagenzglas pipettiert und mit 1 ml einer 2%igen 2,4-DNPH-Lösung versetzt (2g 2,4-DNPH wurden in 100ml einer Mischung aus 3 RT H_2O + 1 RT konz. H_2SO_4 gelöst und filtriert). Der Gehalt an Vitamin-C soll etwa $500 \mu\text{g}$ pro Ansatz betragen. Nach dem Mischen der einzelnen Ansätze wurden diese 3 Std. bei 37°C im Brutschrank inkubiert und sodann 15 min. in Eis gekühlt. Anschließend wurden die leuchtend roten bzw. orange-roten Niederschläge der 2,4-DNP-Hydrzone auf einer G4-Fritte gesammelt, erst mit 2n HCl, dann mit dest. H_2O bis zur Farblosigkeit der Filtrate gewaschen, scharf abgesaugt, mit warmem Äthylacetat

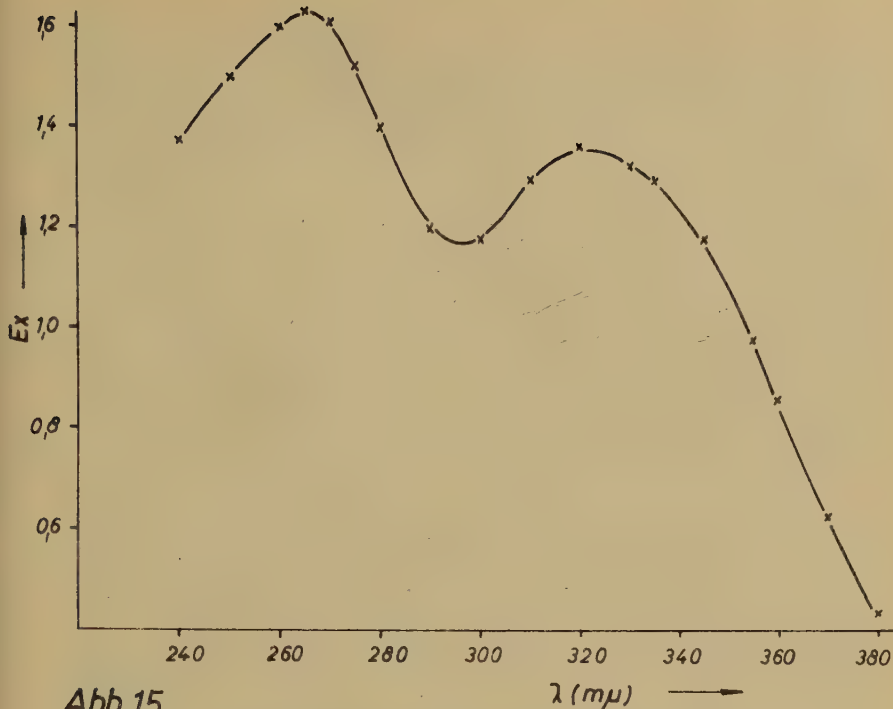


Abb. 15

Absorptionskurve des 2,4-DNP-Hydrazons von Dehydro-Ascorbinsäure (oxydiert mit 2,6-DIP) nach DS-chromat. Trennung. Gelbe Zone: $R_F = 0,67$

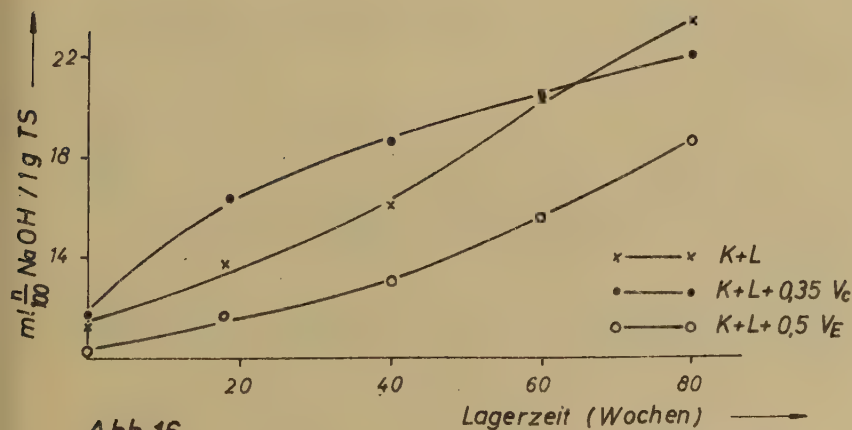


Abb. 16

Änderung der Gesamtsäure in gelagerten Mischungen von Trockentomaten

quantitativ gelöst und die Äthylacetatlösungen jeweils in einen etwa 10 cm hohen birnenförmigen 100ml-Kolben (NS-14,5) übergeführt. Mittels eines Reitmeyer-Aufsatzes wurde das Lösungsmittel an der Wasserstrahlpumpe bei 40 °C abgesaugt und der trockene Rückstand jeweils mit einem genau abgemessenen Volumen (2-5ml) Äthylacetat gelöst.

0,25 ml dieser 2,4-DNP-Hydrazon-Lösung mit einem Gehalt an Hydrazonen, der etwa 25 µg Vitamin-C entsprach, wurden auf eine Kieselgelplatte (250-300 µ Schichtdicke) strichförmig aufgetragen, wobei die Breite möglichst bei allen Proben gleich groß gehalten werden soll. Als Adsorbens wurde Kieselgel (Woelm) benutzt. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels wurde die Platte in eine mit dem Laufmittel: Äthylacetat/Chloroform 5:1 (v/v) beschickte Trennkammer gestellt (ca. 1 Std.) und wieder herausgenommen, sobald das Elutionsmittel nach einer Laufstrecke von 15 cm die Markierungslinie erreicht hatte. Die trockenen ziegelroten Flächen wurden durch Abschaben mit dem Spatel in jeweils ein 50ml-Becherglas überführt, mit genau 10 ml 85%iger H_2SO_4 versetzt und ca. 15 min. unter mehrmaligem Schütteln belassen. Unmittelbar nach dem Zentrifugieren der schwefelsauren Lösung (20 min. bei 3000 U/min) wurde bei 525 mµ im Spektralphotometer von Zeiss in 1cm-Küvetten gegen Wasser als Leerwert gemessen. Messungen, die innerhalb von 3 Std. nach dem Zentrifugieren erfolgten, lieferten noch hinreichend genaue Werte, da die Farbintensität in dieser Zeit nur zu 1,0 - 1,5 % abnahm. ~

Nach dem so beschriebenen Verfahren wurden alle Untersuchungen zur Ermittlung von Vitamin-C neben begleitenden Reduktionen durchgeführt.

Es hat sich empfohlen, als Standard eine L-Ascorbinsäurelösung größenordnungsmäßig gleichen Gehaltes neben der Untersuchungslösung auf dem Chromatogramm mitlaufen zu lassen. Die auf die Chromatographierplatte aufgetragene jeweilige Hydrazonmenge entsprach hierbei einem Ascorbinsäuregehalt von genau 25 µg pro Ansatz.

Für die Berechnung wurde der aus den Tabellen 5-7 resultierende Mittelwert der Extinktionen der gewählten Standardlösung sowie

die entsprechende Mengenangabe für Vitamin-C als Standard verwendet. Alle Messungen können ohne Schwierigkeiten in dem hierfür günstigen Extinktionsbereich zwischen 0,1 - 0,3 erfolgen.

Die Berechnung:

$$x \text{ mg Asc./100g TS} = \frac{Ex_{525} \cdot M_{st} \cdot Verd. \cdot 100}{E_{st525} \cdot E_g}$$

Ex_{525} : Bei 525 m/ μ gemessene Extinktion der Untersuchungs-Lsg.

M_{st} : 0,025 mg Ascorbinsäure, d.h. Menge Ascorbinsäure in [mg], die dem im Standard-Chromatogramm enthaltenen 2,4-DNP-Hydrazon entspricht

Verd. : Verdünnungsfaktor

E_{st525} : 0,215 ; d.h. Extinktion der Standardlösung, bezogen auf die Konzentration in 10 ml 85%ige Schwefelsäure (Tabellen 5-7)

E_g : Einwaage des Materials in Gramm

Bestimmung der Reduktone

Aus der Differenz der Werte beider Bestimmungsmethoden (VI 2. u. 3.) kann somit der Gehalt an Reduktionen ermittelt werden. Die Angabe erfolgt ebenfalls als mg "Ascorbinsäure" pro 100 g TS.

4.) Änderung der Zusammensetzung des Laufmittel-Gemisches

Erwartungsgemäß vergrößert eine Erhöhung des stärker polaren Anteils im Gemisch (Äthylacetat) den R_F -Wert des Hydrazons von Dehydro-Ascorbinsäure (DHA).

Tabelle 3

Äthylacetat/Chloroform (v/v)	R_F -Wert (DHA-Hydrazon)		
1:1	0,17	0,16	0,17
2:1	0,26	0,26	0,25
3:1	0,32	0,33	0,33
5:1	0,40	0,39	0,41

Als Adsorbens wurde Kieselgel (Woelm) benutzt.

Die Laufmittelzusammensetzung Äthylacetat/Chloroform 5:1 (v/v) hatte bei den in Rede stehenden Trockenprodukten eine gute Abtrennung des DHA-Hydrazons von begleitenden orangefarbenen Hydrazonen zur Folge.

5.) Modelluntersuchungen

a.) Ermittlung der R_F -Werte von zwei Reduktionen bekannter Zusammensetzung im Vergleich zu L-Ascorbinsäure

An zwei definierten Reduktionen als Modellsubstanzen wurde die Spezifität der analytischen Bestimmung von Ascorbinsäure mit der DSC-Methode geprüft.

In der unter VI. 3.) beschriebenen Weise wurden die 2,4-DNP-Hydrazone der Dehydroformen von Piperidino-hexose-reduktion und Morpholino-hexose-reduktion nach Oxydation mit Brom auf einer Kieselgelschicht (Woelm) mit Äthylacetat/Chloroform als Laufmittel (v/v) chromatographiert.

Tabelle 4

Äthylacetat/ Chloroform (v/v)	PHR Piperidino- hexose- reduktion	MHR Morpholino- hexose- reduktion	Ascorbin- säure
	R_F - W e r t e		
1:1	0,53	0,50	0,17
3:1	0,63	0,59	0,33
5:1	0,67	0,64	0,40

Trägt man die Untersuchungslösung der drei genannten Reduktone in einer Konzentration von etwa 25 µg pro Ansatz punktförmig auf die Startlinie auf, so gehen die blaßroten Zonen der beiden Reduktone (PHR und MHR) infolge einer Schwanzbildung ineinander über. Ein strichförmiges Auftragen erhöhte dagegen die Randschärfe der Flecken wesentlich. In jedem Fall ist jedoch

aus einer entsprechenden Mischung eine qualitative Trennung beider Reduktone von Ascorbinsäure durch die Dünnschicht-Chromatographie in der beschriebenen Art und Weise sehr gut möglich, wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist. Der Bereich der jeweiligen Leerzone zwischen den hier in Frage kommenden Substanzzonen ist groß genug, um auch eine quantitative Trennung erwarten zu können.

b.) Quantitative Trennung und Bestimmung von Vitamin-C
aus einer Modellmischung neben definierten Reduktionen
(MHR und PHR)

α.) 10 mg L-Ascorbinsäure wurden in einen 100ml-Kolben eingewogen und nach dem bereits beschriebenen Verfahren behandelt. Nach der dünnschichtchromatographischen Wanderung des 2,4-DNP-Hydrazons von Dehydro-ascorbinsäure erfolgte die Bestimmung der Extinktion an einer Lösung, die genau 25 µg Vitamin-C/10ml 85%ige H₂SO₄ enthielt. Die ziegelrote Zone wurde abgeschabt, eluiert und die Lösung nach dem Zentrifugieren gemessen:

Tabelle 5

Probe	Ex ₅₂₅	Meßkonzentration für Vitamin-C
1	0,212	25 µg / 10 ml 85%ige H ₂ SO ₄
2	0,218	" " "
3	0,219	" " "
4	0,216	" " "
5	0,215	" " "

Als Laufmittel wurde das Gemisch Äthylacetat/Chloroform 5:1 (v/v) verwendet.

B.) Eine Mischung von 10 mg Ascorbinsäure und 5 mg Piperidinoxose-reduktion wurde in einen 100ml-Kolben eingewogen und wie unter α.) behandelt. Nach der chromatographischen Trennung der Hydrazone beider Dehydroverbindungen wurde die ziegelrote Zone, die einem R_F-Wert von 0,325 entsprach, abgeschabt, das Hydrazon von Dehydro-ascorbinsäure mit 85%iger Schwefelsäure

eluiert und die Lösung nach dem Zentrifugieren im Spektral-
photometer (Zeiss) bei 525 m μ gemessen.

Tabelle 6

Probe	Ex ₅₂₅	Meßkonzentration für Vitamin-C
1	0,214	25 μ g / 10 ml 85%ige H ₂ SO ₄
2	0,215	" " "
3	0,213	" " "
4	0,216	" " "
5	0,217	" " "

J.) Eine Mischung von 10 mg Ascorbinsäure,
+ 5 mg Piperidino-hexose-reduktion,
+ 5 mg Morpholino-hexose-reduktion
wurde, wie unter A.) und B.) beschrieben, behandelt. Nach
der chromatographischen Trennung in eine ziegelrote Zone
(R_F-Wert = 0,32) und zwei blaßrote Zonen (deren R_F-Werte
zwischen 0,58 und 0,66 lagen) wurde wiederum die ziegelrote,
die dem Vitamin-C entsprach, wie unter B.) angegeben, zur
Messung des Hydrazons vorbereitet:

Tabelle 7

Probe	Ex ₅₂₅	Meßkonzentration für Vitamin-C
1	0,219	25 μ g / 10 ml 85%ige H ₂ SO ₄
2	0,214	" " "
3	0,212	" " "
4	0,215	" " "
5	0,215	" " "

Wie diese Modellversuche zeigen, kann Ascorbinsäure aus einer
Mischung von Reduktionen nach der Methode der aufsteigenden
Dünnschicht-Chromatographie ohne Schwierigkeiten vollständig
abgetrennt und mit einem Maximalfehler von $\pm 2,0$ % bestimmt
werden. Die Ergebnisse der quantitativen spektralphotometri-

schen Bestimmung von Vitamin-C nach vorhergehender dünnschicht-chromatographischer Abtrennung sind, wie aus den Tabellen 5-7 zu ersehen ist, in jedem gewählten Fall gut reproduzierbar.

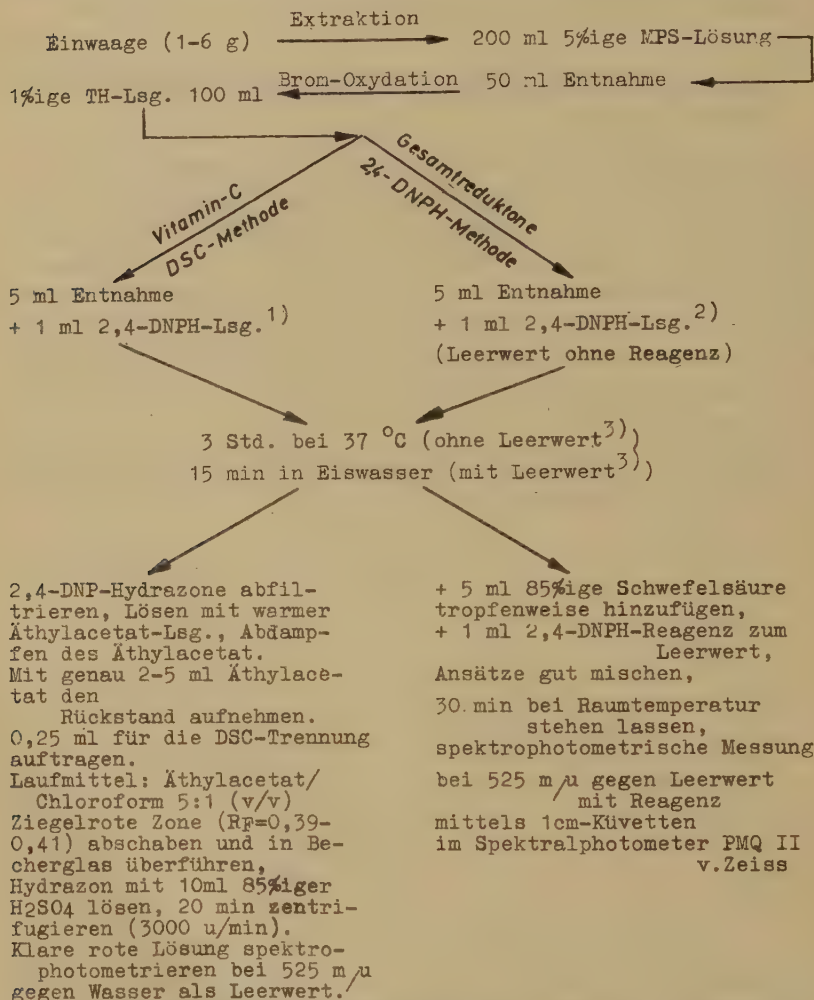
6.) Bestimmung von Vitamin-C und Reduktonen im biologischen Material

Die Bestimmung von Vitamin-C wie auch die der Summe aller im Material vorliegenden reduktionartigen Verbindungen (einschließlich Vitamin-C) kann in einer gemeinsamen Einwaage sowie nach gleicher Vorbehandlung (Extrahieren, Oxydieren, Inkubieren) erfolgen. Der Einfachheit und besseren Reproduzierbarkeit wegen sollen die Verdünnungsverhältnisse möglichst konstant gehalten werden. Es wird daher empfohlen, für die Wahl des günstigsten Meßbereiches die jeweiligen Einwaagen entsprechend dem Gehalt der zu bestimmenden Komponente zu variieren.

Die rechnerische Angabe erfolgte jeweils als mg Ascorbinsäure pro 100 g Trockensubstanz (TS).

ANALYTISCHER TRENNUNGSGANG

Zur Simultanbestimmung von Vit.-C und Reduktionen in Trockenproduktmischungen



1) 2,4-DNPH-Lsg.
2g 2,4-DNPH lösen
in 100 ml
(3 RT H_2O
+ 1 RT konz. H_2SO_4)

2) 2,4-DNPH-Lsg.
2g 2,4-DNPH lösen
in 100 ml 85%iger
Schwefelsäure

3) Betrifft nur
die Leerwerte
der 2,4-
DNPH-Methode

E. Versuchsergebnisse und Diskussion

Wassergehalt

Die Wasserwerte der Nullproben (KL_0) liegen bei den Mischungen trockener Karotten etwa bei 6 %, während diejenigen von Trockentomaten ca. 7 % betragen. Obgleich die Proben mit Zusatz von Vitamin E und Antioxydants Roche, die jeweils noch Weizenmehl enthalten, sowohl bei den Trockenkarotten als auch bei den Trockentomaten einen anfangs höheren Wassergehalt aufweisen (Tabellen 8 und 9), ist ihre Feuchtigkeitszunahme während der betrachteten Lagerzeit vergleichsweise am geringsten (Abb.17). Alle Proben wurden, wie bereits erwähnt, in verschweißten Al-kaschierten Tüten eingelagert. Dennoch ist der kontinuierliche Feuchtigkeitsanstieg während der Lagerung von ca. 1 1/2 Jahren bei allen Mischungen recht beachtlich (Abb.17). Er beträgt bei den Trockentomaten mit Zusätzen von Vitamin-C und Citronensäure sogar zwischen 95 % und 105 % (Tabelle 9): Im Vergleich dazu weisen die Karottenmischungen eine Feuchtigkeitszunahme von 50 - 60 % ihres Anfangswertes auf (Tabelle 8). Während die Proben der Karottenmischungen noch am Ende der geprüften Lagerungsperiode zwar bräunlich verfärbt, aber doch pulvrig-trocken waren, zeigten die Tomatenmischungen eine zäh-klebrige Konsistenz. Daraus ergibt sich, daß sich die Proben beider Mischungen während der gesamten Lagerzeit in einem Feuchtigkeitsbereich befanden, in dem die Reaktionen im Sinne der Bildung nichtenzymatischer Intermediär- und Maillardverbindungen sehr begünstigt werden [40;62].

Außerdem wirkt sich der hohe Feuchtigkeitsgehalt, wie später gezeigt wird, nachteilig auf die Erhaltung des Tomatenfarbstoffs Lycopin aus.

Tabelle 8: Wassergehalt in Gemischen von Trockenkarotten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme in % gegenüber Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀ %	Kl ₁ %	Kl ₂ %	Kl ₃ %	Kl ₄ %	
K + L	6,0	6,9	8,1	9,0	9,7	61,5
K + L + 0,5 V _E	7,0	7,4	8,0	8,6	9,1	30,0
K + L + 0,5 A _R	6,5	7,0	7,6	7,9	8,2	26,2
K + L + 0,35 V _C	6,2	6,9	8,1	8,9	9,5	53,2
K + L + 1,1 V _C	6,0	6,8	8,0	8,9	9,4	56,8
K + L + 0,35 V _C + 0,25 Ci	6,0	6,7	7,9	8,5	9,2	53,3
K + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	6,0	6,9	8,1	8,8	9,3	55,0

Tabelle 9: Wassergehalt in Gemischen von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme in % gegenüber Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀ %	Kl ₁ %	Kl ₂ %	Kl ₃ %	Kl ₄ %	
T + L	7,2	8,5	10,1	12,0	13,5	87,5
T + L + 0,5 V _E	7,8	9,4	11,1	12,6	14,0	79,4
T + L + 0,5 A _R	7,8	9,4	11,4	12,7	14,1	80,8
T + L + 0,15 V _C	7,0	9,0	11,5	12,4	13,9	98,7
T + L + 0,35 V _C	6,9	9,1	11,5	12,9	13,9	101,4
T + L + 1,1 V _C	7,0	8,6	10,7	12,5	14,3	104,3
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	7,0	8,7	11,0	12,9	14,4	105,8
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	7,2	8,9	11,0	12,7	14,1	96,0

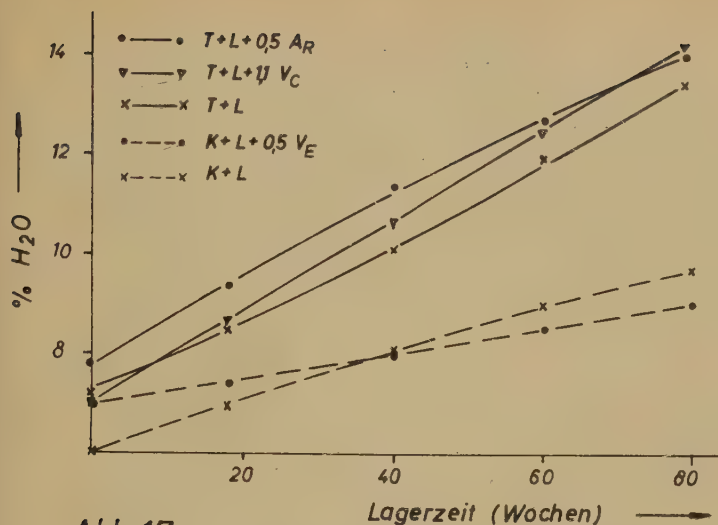


Abb. 17

Änderung des Feuchtigkeitsgehaltes in Mischungen von Trockentomaten u. -karotten

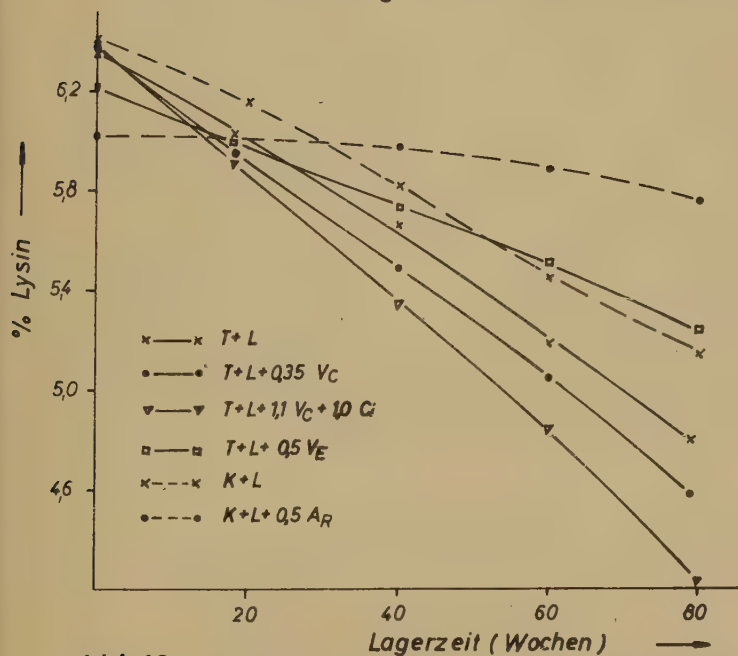


Abb. 18

Änderung von Lysin in Mischungen von Trockenkarotten u. -tomaten

Lysin

Wie die Tabellen 10 und 11 zeigen, haben alle untersuchten Proben während der Lagerung von 1 1/2 Jahren bei 30 °C und 70 % rel. Feuchte teilweise recht beträchtliche Lysinverluste erfahren. Damit können die Untersuchungen anderer Autoren [23;63-66] bestätigt werden, wonach bei der Einwirkung und Hitze-Lagerung von Trockenlebensmitteln Lysin zu einem erheblichen Teil als sehr reaktionsfähige Aminosäure der Bräunung unterliegt, wobei weitgehende Zerstörung eintreten kann [64].

Auffallend ist die vergleichsweise geringe Abnahme von Lysin bei allen Proben, die V_E - und A_R -Zusätze in Verbindung mit Weizenmehl enthielten. Die Verluste von Lysin nahmen aber gegenüber den Grundmischungen von Karotten bzw. Tomaten mit Lysin in den Proben zu, denen Ascorbinsäure und Citronensäure steigenden Gehaltes zugegeben worden sind. Da in den Grundmischungen von Trockenkarotten und Trockentomaten mit einem Zusatz von 1,1 % Ascorbinsäure + 1,0 % Citronensäure (K bzw. T + 5% L + 1,1% V_C + 1,0 Ci) der Anteil von Verbindungen mit reaktionsfähigen Carbonylgruppen relativ hoch ist, sind die hierbei während der Lagerung von 1 1/2 Jahren aufgetretenen Lysinverluste (28-34 %) nicht besonders verwunderlich. Auf Grund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse ist anzunehmen, daß vorzugsweise die Zusatzkomponenten mit ihren aktiven Gruppen untereinander reagiert haben.

Ein Vergleich der Tabellen 10 und 11 und die Betrachtung der Abb.18 lassen die relativ großen Lysin-Verluste in den Trockentomatenproben erkennen. Ihr hoher Gehalt an Monosacchariden, Säuren und Feuchtigkeit schafft offenbar günstige Bedingungen für eine erhöhte Reaktionsbereitschaft im Sinne der nichtenzymatischen Bräunung.

Tabelle 10: Lagerungsveränderungen von Lysin
in Gemischen von Trockenkarotten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Abnahme in % gegenüber Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀ %	Kl ₁ %	Kl ₂ %	Kl ₃ %	Kl ₄ %	
K + L	6,40	6,17	5,81	5,45	5,15	21,1
K + L + 0,5 V _E	6,03	6,00	5,95	5,85	5,70	5,5
K + L + 0,5 A _R	6,01	6,01	5,99	5,90	5,76	4,2
K + L + 0,35 V _C	6,48	6,21	5,80	5,48	5,11	21,1
K + L + 1,1 V _C	6,39	6,08	5,60	5,14	4,69	26,6
K + L + 0,35 V _C + 0,25 Ci	6,35	6,05	5,62	5,24	4,83	24,0
K + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	6,37	6,07	5,61	5,10	4,55	28,5

Tabelle 11: Lagerungsveränderungen von Lysin
in Gemischen von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Abnahme in % gegenüber Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀ %	Kl ₁ %	Kl ₂ %	Kl ₃ %	Kl ₄ %	
T + L	6,35	6,03	5,67	5,18	4,80	24,5
T + L + 0,5 V _E	6,21	5,98	5,73	5,51	5,23	15,8
T + L + 0,5 A _R	6,20	6,02	5,70	5,45	5,18	16,5
T + L + 0,15 V _C	6,35	5,94	5,48	5,07	4,63	27,1
T + L + 0,35 V _C	6,38	5,95	5,50	5,08	4,59	28,0
T + L + 1,1 V _C	6,37	5,90	5,39	4,89	4,28	32,7
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	6,37	5,88	5,36	4,91	4,37	31,4
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	6,38	5,91	5,35	4,84	4,21	34,0

Gesamtsäure

Bei allen untersuchten Proben hat, wie aus den Tabellen 12 und 13 zu ersehen ist, während der betrachteten Lagerzeit von 79 Wochen ein Anstieg der titrierbaren Acidität stattgefunden (Abb.16). Obgleich die Proben der Karottenmischungen gegenüber denen der Trockentomaten eine größere prozentuale Zunahme der Gesamtsäure aufweisen, sind die Verhältnisse bezogen auf die Absolutbeträge jedoch umgekehrt. Beachtlich ist der hohe Säuregehalt der Grundmischungen trockener Tomaten mit Lysin T + L (Kl_0), welcher ca. 7,5mal größer ist als derjenige der Mischung trockener Karotten mit Lysin K + L (Kl_0). Die starke Säurezunahme der Proben mit Zusätzen von Vitamin-E und Antioxydants Roche beider Grundmischungen ist bemerkenswert. Dagegen ist die Bildung saurer Reaktionsprodukte in allen mit Ascorbinsäure und Citronensäure versetzten Proben vergleichsweise geringer. Wahrscheinlich kann die während der Lagerung vor sich gehende Zerstörung des Antioxydants, wie später noch berichtet wird, damit in einen kausalen Zusammenhang gebracht werden.

Die in den Tabellen 12 und 13 gebrachten Befunde stimmen grundsätzlich mit denen anderer Autoren [18;19;67] überein, die zeigten, daß im Rahmen der Melanoidinbildung Verbindungen sauren Charakters entstehen. DUBOURG [17], WEYGAND [68] und LENTO u. Mitarb. [69] beschrieben die katalytische Wirkung von H^+ -Ionen, die nach HODGE [5;10;70] in Bräunungsreaktionen eingreifen, wobei DUBOURG besonders auf den Zusammenhang zwischen Protonenkatalyse und sich bildenden reduktionartigen Intermediärprodukten hinwies. LENTO u. Mitarb. stellten fest, daß eine zunehmende Acidität die Bildung von Methylglyoxal begünstigt, das nach ENDERS [36] als ein aktiver Reaktionspartner der Melanoidinbildung anzusehen ist.

Tabelle 12 : Änderung der Gesamtsäure in Gemischen
von Trockenkarotten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme in % gegen- über Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	ml $\frac{n}{100}$ NaOH / 1 g TS					
K + L	11,3	13,8	16,0	19,2	23,4	107,0
K + L + 0,5 V _E	10,3	11,9	13,0	15,7	18,5	79,6
K + L + 0,5 A _R	10,4	12,7	12,9	15,3	18,5	77,8
K + L + 0,35 V _C	13,7	16,3	18,5	20,3	22,0	46,1
K + L + 1,1 V _C	19,4	20,8	22,0	23,2	24,5	26,3
K + L + 0,35 V _C + 0,25 Ci	17,1	20,3	23,0	23,5	24,3	42,1
K + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	27,0	29,9	30,6	31,9	34,3	27,0

Tabelle 13 : Änderung der Gesamtsäure in Gemischen
von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme in % gegen- über Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	ml $\frac{n}{100}$ NaOH / 1 g TS					
T + L	81,2	89,1	95,8	102,1	108,0	33,0
T + L + 0,5 V _E	78,3	82,4	87,3	93,5	100,5	28,4
T + L + 0,5 A _R	81,0	85,9	91,6	96,8	103,2	27,4
T + L + 0,15 V _C	89,2	94,4	99,0	94,0	108,7	21,8
T + L + 0,35 V _C	91,5	97,5	102,0	107,2	111,9	22,5
T + L + 1,1 V _C	98,8	102,3	107,5	110,9	114,5	15,9
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	96,9	103,2	107,1	110,2	113,6	17,3
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	103,2	112,1	119,2	122,5	124,0	20,2

Hydroxymethylfurfurol

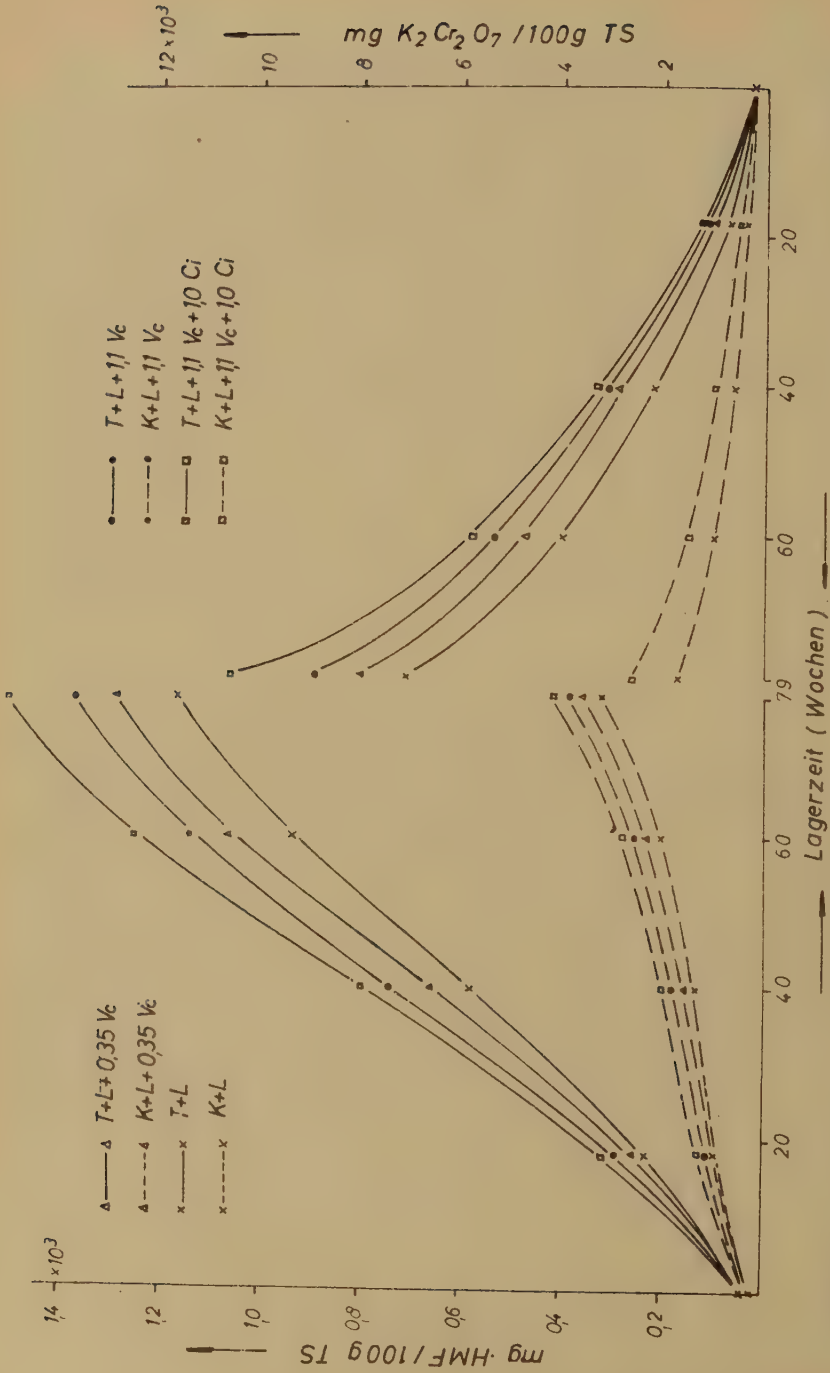
Im Laufe einer 1 1/2-jährigen Lagerungszeit bei 30 °C und 70 % rel. Feuchte hat bei allen Proben sowohl der Trockenkarotten als auch der Trockentomaten eine Bildung des bei der Bräunung visuell nicht in Erscheinung tretenden Intermediärprodukts 5-Hydroxymethylfurfurol (HMF) stattgefunden (Tabellen 14 und 15; Abb. 19). Damit konnten die bereits mit papierchromatographischen Untersuchungen erzielten Befunde durch spektralphotometrisch-quantitative Messungen ergänzt und bestätigt werden. Gegenüber der Zunahme des HMF um das 9,2 - 14,3-fache der ursprünglich vor der Lagerung vorhandenen Menge in den Mischungen der Trockenkarotten ist der Anstieg um das 25-32-fache bei Trockentomaten ganz beträchtlich (Abb. 19). Die hohen HMF-Werte deuten auf die von uns früher festgestellte besondere Bereitschaft von Trockentomatenpulvern und Tomatentrockensuppen zu Bräunungsreaktionen und Farbstoffwandlungen hin [71]. In beiden Grundmischungen ist der Zusatz von Vitamin-E und Antioxydants Roche ohne irgendeinen Einfluß auf die Bildung von HMF während der Lagerung geblieben. Wie beide Tabellen (14 und 15) zeigen, verhalten sich diese Proben genauso wie diejenigen der Grundmischungen trockener Karotten bzw. trockener Tomaten mit Lysin (K + L bzw. T + L). Der Zusatz von Ascorbinsäure und Citronensäure erhöht sogar die Zunahme von HMF bei beiden Mischungen, wobei die Bildungstendenz von HMF angenähert in direktem Verhältnis zu den zugesetzten Mengen von Antioxydants und Synergist steht. Ascorbinsäure scheint hier indirekt die Funktion eines Pro-oxydants' auszuüben, während Citronensäure synergistisch die HMF-Bildung fördert; denn die höchsten Zunahmen von HMF wurden durch den kombinierten Zusatz beider Carbonylverbindungen erzielt. Außerdem ist es sehr wahrscheinlich, daß der hohe Gehalt an Monosacchariden [72] und verschiedenen Säuren [73], [74] bzw. die Zunahme der Gesamtsäure während der Lagerung [75] die Bildung von HMF in Tomatenprodukten begünstigen [76].

Tabelle 14 : Änderung des 5-Hydroxymethylfurfurols
in Gemischen von Trockenkarotten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme um das x-fache
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	mg HMF/100 g TS					
K + L	35	92	130	201	321	9,2
K + L + 0,5 V _E	25	71	97	142	227	9,1
K + L + 0,5 A _R	23	67	89	125	218	9,5
K + L + 0,35 V _C	30	103	155	228	356	11,9
K + L + 1,1 V _C	29	109	180	253	382	13,2
K + L + 0,35 V _C + 0,25 Ci	27	105	164	234	359	13,3
K + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	29	115	192	273	414	14,3

Tabelle 15 : Änderung des 5-Hydroxymethylfurfurols
in Gemischen von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme um das x-fache
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	mg HMF/100 g TS					
T + L	47	229	579	941	1170	24,9
T + L + 0,5 V _E	42	236	623	915	1105	26,2
T + L + 0,5 A _R	43	237	628	936	1135	26,4
T + L + 0,15 V _C	46	245	639	1004	1210	26,4
T + L + 0,35 V _C	50	254	665	1068	1295	26,0
T + L + 1,1 V _C	48	288	742	1138	1360	28,4
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	48	245	670	1094	1335	27,8
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	47	308	793	1253	1510	32,1



Bräunung

Eng verbunden mit der Bildung von HMF ist, wie die Tabellen 16 und 17 sowie Abb.19 und 20 zeigen, die Bildung brauner Pigments während der Lagerung bei 30 °C und 70 % rel.Feuchte. Nach DIEMAIR u. Mitarb. [77] kann HMF Polykondensationsprodukte bilden (Tabelle 1), die beim Erhitzen Färbungen von gelb über gelbbraun nach dunkelbraun aufweisen. Außerdem kann die aktive Carbonylgruppe des HMF mit anderen Lebensmittelkomponenten reagieren und braun gefärbte Produkte liefern [2;3;4;5].

Die gleichen Erkenntnisse, die bei der Bildung von HMF in Abhängigkeit von verschiedenen Antioxydanz-Zusätzen bei Gemischen trockener Tomaten und Karotten erhalten und bereits beschrieben worden sind, konnten auch durch die quantitativen Untersuchungen der wasserlöslichen sichtbaren Bräunung bestätigt werden (Tabellen 16 und 17 sowie Abb.19 und 20). Auffallend ist die etwa viermal stärkere Bräunungszunahme der Tomatenmischungen gegenüber der in vergleichbaren Mischungen von Trockenkarotten, entsprechend den auf Seite 50 gebrachten Ausführungen.

Wie aus den Abbildungen 19 und 20 ersehen werden kann, verlaufen die Kurven der zeitlichen Änderungen von HMF und Bräunung nicht linear. Vielmehr gehorcht die jeweilige Zunahme einer Exponentialfunktion. Besonders während der letzten Lagerungsperiode (60. - 79.Woche) nimmt in den Proben der Tomatenmischungen (vorzugsweise bei denen mit hohen Zusätzen von V_C und C_i) die Bräunungsbildung stärker als diejenige von HMF zu. Dieser Befund geht parallel mit entsprechenden Erkenntnissen von CRAIG u. Mitarb. [38] aus Lagerungsversuchen an vakuum-schaumgetrockneter Vollmilch. Sie konnten feststellen, daß eine entsprechende quantitative Anreicherung von HMF im Endprodukt nicht stattfindet, da die bei höheren Temperaturen einsetzende Maillard-Reaktion neugebildetes HMF zum größten Teil abfängt.

Während die Nullproben der Karottenmischungen rein hellgelb aussahen, hatte bereits nach 40 Wochen eine Farbvertiefung nach gelb-braun stattgefunden. Die 79 Wochen gelagerten Proben sahen völlig braun aus.

Tabelle 16 : Änderung der wasserlöslichen sichtbaren
Bräunung in Gemischen von Trockenkarotten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme um das x-fache
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	mg K ₂ Cr ₂ O ₇ /100 g TS					
K + L	263	406	620	995	1710	6,5
K + L + 0,5 V _E	237	343	503	986	1500	6,3
K + L + 0,5 A _R	236	337	488	968	1585	6,7
K + L + 0,35 V _C	272	487	809	1215	1954	7,2
K + L + 1,1 V _C	269	508	867	1310	2110	7,9
K + L + 0,35 V _C + 0,25 Ci	270	483	803	1215	2015	7,4
K + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	255	546	982	1530	2565	10,0

Tabelle 17 : Änderung der wasserlöslichen sichtbaren
Bräunung in Gemischen von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Zunahme um das x-fache
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	mg K ₂ Cr ₂ O ₇ /100 g TS					
T + L	241	726	2235	3985	7130	29,6
T + L + 0,5 V _E	247	775	2270	3890	7080	28,7
T + L + 0,5 A _R	238	818	2290	4045	7275	30,6
T + L + 0,15 V _C	251	1040	2775	4490	7450	30,0
T + L + 0,35 V _C	245	1090	2890	4735	7985	32,6
T + L + 1,1 V _C	255	1135	3075	5320	8890	35,0
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	240	1070	2800	4750	8115	34,1
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	255	1125	3160	5720	10650	41,8

Während der ersten 4 Monate wich die leuchtend rote Farbe der frisch eingelagerten Tomatenmischungen zunehmend einer bräunlichen Verfärbung. Aus dem rot-braun aussehenden Produkt (Kl₁) der ersten Lagerungsperiode (18 Wochen) konnten entsprechend früheren Befunden unseres Arbeitskreises die den Lycopinfarbstoff überdeckenden braunen Inhaltsstoffe mit Wasser vollständig eluiert werden. Die Mischung sah danach wieder leuchtend rot aus. Bereits nach 40 Wochen zeigten die Tomatenmischungen ein tiefbraunes Aussehen, während die Farbe der Endprodukte (Kl₄) schwarzbraun war. Der Geruch ähnelte dem eines Malzkaffeesurrogates. Nach dem Eluieren mit Wasser zeigte das Produkt noch eine geringe Braunfärbung. Offensichtlich sind im Rahmen der Bräunungsreaktion hochpolymere, wasserunlösliche braune Farbpigmente entstanden. Allein aus rein farblichen Gründen müssen solche Proben für den Konsum ausscheiden.

Tabelle 18 : Änderung des Lycopingehaltes
in Gemischen von Trockentomaten

Untersuchungs- material	Lagerzeit [Wochen]					Abnahme in % gegen- über Kl ₀
	0	18	40	60	79	
	Kl ₀	Kl ₁	Kl ₂	Kl ₃	Kl ₄	
	mg Lycopin/100 g TS					
T + L	82,0	69,4	33,8	22,1	15,9	80,5
T + L + 0,5 V _E	74,5	50,1	27,3	15,0	11,8	84,0
T + L + 0,5 A _R	72,0	50,5	22,1	15,5	11,4	84,1
T + L + 0,15 V _C	80,9	57,3	27,3	18,1	16,8	79,4
T + L + 0,35 V _C	80,4	58,1	27,3	17,5	15,1	81,3
T + L + 1,1 V _C	81,1	57,2	26,5	17,5	12,3	85,0
T + L + 0,45 V _C + 0,25 Ci	80,9	55,1	26,8	16,3	11,5	85,7
T + L + 1,1 V _C + 1,0 Ci	81,2	55,0	25,4	8,9	5,5	93,4

Lycopin

Wie zu erwarten war, weisen alle bei 30 °C und 70 % relativer Luftfeuchtigkeit gelagerten Tomatenmischungen nach 79 Wochen einen beträchtlichen Lycopinverlust auf. Er betrug in der Grundmischung T + L 80,5 %. Die Zerstörung dieses roten Tomatenfarbstoffs ist in den Proben mit Zusätzen von Ascorbinsäure, wie aus der Tabelle 18 zu ersehen ist, noch größer. Auch Zusätze von Vitamin E und Antioxydants Roche haben keinen positiven Einfluß auf die Haltbarkeit des Pigments. Den eindeutig größten Zerstörungsgrad des Lycopins zeigten aber die Proben der Mischung T + L + 1,1 V_C + 1,0 Ci mit 93,4 % (Abb.22). Dabei wiesen alle Mischungen zwischen der 18. und 40. Lagerungswoche den vergleichsweise stärksten Lycopinabfall auf. Bereits nach dieser Zeit hatten die Proben eine Braunfärbung erfahren, die den noch verbliebenen roten Farbstoff überlagerte. Mit zunehmender Lagerzeit aber nahmen die Mischungen eine schwarzbraune Verfärbung an. Parallel mit diesen Verfärbungen ging die kontinuierliche Ausbildung einer feucht-klebrigen Konsistenz (siehe Tabelle 9). Wie die Untersuchungen erkennen lassen, kann für den Lycopinabbau während der Lagerung das Zusammenwirken folgender Einflußfaktoren verantwortlich gemacht werden:

Die Lagerungstemperatur von 30 °C in Verbindung mit einer Feuchtigkeitszunahme (Tabelle 9) bei Anwesenheit von Sauerstoff einerseits und die bemerkenswert große Acidität der Produkte andererseits (Tabelle 13), die noch durch Zusätze von Ascorbinsäure und Citronensäure erhöht worden ist. Ascorbinsäure und Citronensäure in Konzentrationen von 1 % zeigten in Verbindung mit einem Zusatz von Lysin in Trockentomaten eine zumindest indirekte pro-oxydative Wirkung auf Lycopin, wobei die genaue Wirkungsweise nur vermutet werden kann.

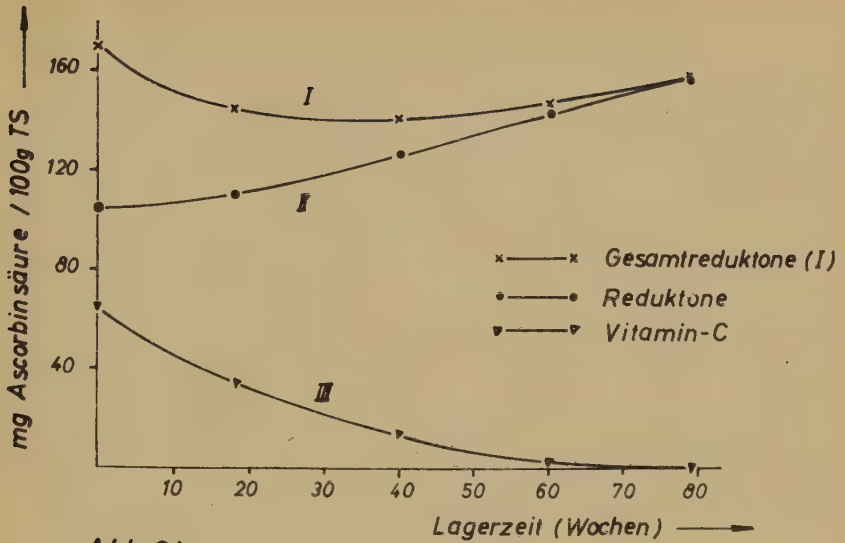


Abb. 21

Änderungen von Vitamin-C, Reduktonen
u. Gesamtreduktonen in der Mischung T+L

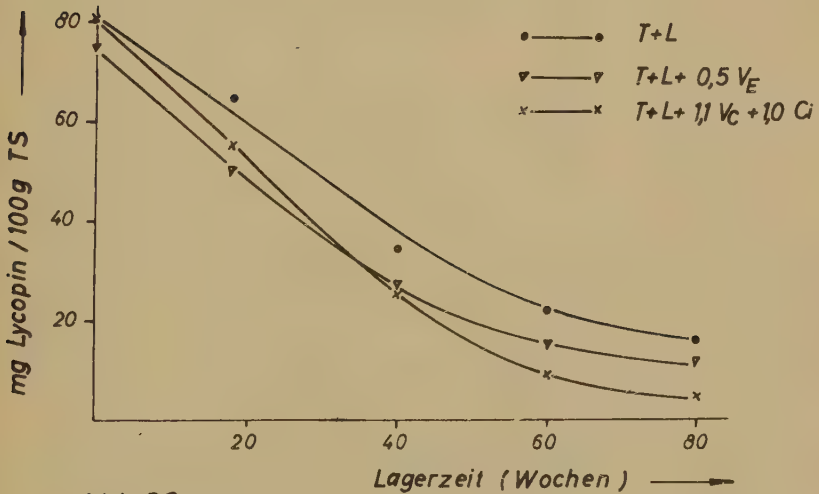


Abb. 22

Änderung von Lycopin in gelagerten
Mischungen von Trockentomaten

Ascorbinsäure und Reduktone

Aus den Angaben der Literatur geht hervor, daß die Bildung stark reduzierender Stoffe in Naturprodukten überall dort möglich ist, wo insbesondere Zucker mit Eiweiß zusammen erhitzt wurde, auch dort, wo Zucker mit eiweißhaltigem Material bei mäßigen Temperaturen längere Zeit gelagert wurde. Dabei wurde vielfach auf einen durch Reduktonbildung bedingten scheinbaren Vitamin-C-Anstieg hingewiesen, der sich bei Nachprüfung im Tierversuch als antiskorbutisch unwirksam erwiesen hat [78;79]. Bei Benutzung eines der zahlreichen Bestimmungsverfahren, die neben Vitamin-C noch Reduktone miterfassen, erhielten die Autoren [78;79] Ergebnisse, wie sie in verallgemeinerter Form etwa Tabelle 19 (Spalte I) am Beispiel eines eigenen Versuches zeigt, wobei es sich hier um Reduktone handelt, die im Untersuchungsmaterial gebildet werden. Die Identität der Werte von

Tabelle 19 : Lagerungsversuche mit Mischung K + L

Lagerzeit	Gesamtreduktion (I)	Vitamin-C(II)	Reduktone (III)
Wochen	Berechnung als mg Ascorbinsäure/100 g TS		
0-Probe (Kl ₀)	4	0	4
18 (Kl ₁)	7	0	7
40 (Kl ₂)	11	0	11
60 (Kl ₃)	17	0	17
79 (Kl ₄)	31	0	31

Spalte I u. III der Tabelle kann jedoch erst dann als gesichert angesehen werden, wenn analytisch eindeutig nachgewiesen worden ist, daß im betreffenden Untersuchungsmaterial keine Ascorbinsäure (und seine Dehydroform) vorhanden ist.

KRÖNER u. Mitarb. [80] fanden bei der fabrikmäßigen Kartoffeltrocknung zuerst einen Abfall und dann, gegen Ende der Trocknung, einen Anstieg des Reduktionsvermögens gegenüber 2,6-DiP [81]. Auch diese Erscheinung kann auf Grund eines eigenen Versuches erklärt werden, der in der folgenden Tabelle 20 dargestellt ist:

Tabelle 20 : Lagerungsversuche mit Mischung T + L

Lagerzeit	Gesamtreduktone(I)	Vitamin-C(II)	Reduktone(III)
Wochen	Berechnung als mg Ascorbinsäure/100g TS		
0-Probe (Kl ₀)	170	65	105
18 (Kl ₁)	145	35	110
40 (Kl ₂)	142	14	128
60 (Kl ₃)	147	3	144
79 (Kl ₄)	158	0	158

Ebenso wie das vorliegende Untersuchungsmaterial T + L (Tab.20) enthielten die untersuchten Kartoffelproben von KRÖNER u.Mitarb. Ascorbinsäure. Wenn nun die Autoren mit der für Vitamin-C neben Reduktonen unspezifischen, aber gebräuchlichen Bestimmungs- methode mittels 2,6-Dichlorphenolindophenol (2,6-DiP) eine anfäng- liche Abnahme des Reduktionsvermögens festgestellt haben, so deutet diese Erscheinung, wie vergleichsweise in verallgemei- nerter Form aus Tabelle 20 ersehen werden kann, auf einen an- fangs hohen Vitamin-C-Verlust hin. Erst im Laufe der Trocknungs- zeit muß die zunehmend stärker werdende Reduktonbildung (die ja ebenfalls mit 2,6-DiP erfaßt wird) den Vitamin-C-Verlust nicht nur kompensiert, sondern sogar noch übertroffen haben. Die Autoren erhielten eine Kurve, wie sie in Abb.21 I zu sehen und in Tabelle 20, Spalte I dargestellt ist. Sie stellt eine sogenannte Bilanzkurve dar, die sich aus der Summe des jewei- ligen Ascorbinsäure- und Reduktongehalts im betreffenden erhitz- ten bzw. gelagerten Substrat zusammensetzt. Selbstverständlich kann mit einer solchen Kurve keine genaue Aussage über die Ver- änderungen von Ascorbinsäure und Reduktonen gemacht werden, da sich beide Komponenten, obwohl von chemisch ähnlicher Struktur, doch recht gegensätzlich in gelagerten Trockenmaterialien ver- halten, wie die Tabellen 19 u.20 sowie die Abbildungen 23 u.24 zeigen.

Durch den bereits beschriebenen Trennungsgang zur Simultanbe- stimmung von Vitamin-C und Reduktonen können die Veränderungen

dieser beiden Komponenten während der Lagerung bilanzanalytisch verfolgt werden. Die in Tabelle 20 und Abb.21, Kurve III dargestellten Ergebnisse lassen eine kontinuierliche Abnahme der in der Tomatenmischung T + L enthaltenen natürlichen Ascorbinsäure erkennen. Bereits nach einem Jahr sind nur noch ca.10 % des ursprünglich enthaltenen Vitamin-C vorhanden. Auffällig ist der verhältnismäßig große Verlust der ernährungsphysiologisch bedeutsamen Verbindung während der ersten 25 Wochen. Im Gegensatz dazu ist die Bildung von Reduktonen bzw. reduktionartigen Substanzen, wie die Kurve II (Abb.21) zeigt, anfangs relativ gering (9 % während der ersten 20 Wochen). Sie nimmt erst in den weiteren Lagerungsstadien - dann annähernd linear - stärker zu. Die Gesamtreduktone nehmen zwar ebenfalls - summarisch gesehen - ab, wenn man den gesamten Lagerungszeitraum von 1,5 Jahren betrachtet. Jedoch läßt diese Summenkurve (Abb.21,I) keine genaue Analyse hinsichtlich der Veränderungen von Ascorbinsäure und Reduktonen zu. Wenn man voraussetzt, daß sich das im Laufe der Lagerung einmal zerstörte Vitamin-C nicht mehr reversibel zurückbildet, zwingt der positive Anstieg der zweiten Kurvenhälfte (Abb.21,I) zu der Schlußfolgerung, daß spätestens während dieser letzten Lagerungsperiode neben dem Verlust von Vitamin-C eine Bildung von reduktionartigen Verbindungen erfolgt sein muß.

In den Nullproben der Trockenkarotten (K+L) ließ sich dünn-schichtchromatographisch kein Vitamin-C nachweisen (Tab.19). Beachtenswert ist auch hier die zunehmende Bildung von Reduktonen, die allein im letzten Lagerungsquartal 45 % betrug.

Weiterhin wurden Untersuchungen an Mischungen von Trockenkarotten und Trockentomaten durchgeführt, denen sowohl L-Ascorbinsäure als Antioxydants allein als auch in Verbindung mit Citronensäure als seinem Synergisten zugesetzt wurde. Die Versuchsergebnisse wurden in den Tabellen 21-24 zusammengestellt und lassen bei allen Proben während der geprüften Lagerungszeit von 79 Wochen eine Abnahme von Vitamin-C und eine damit parallel gehende Bildung von Reduktonen erkennen (Abb.23,24). Auffallend ist der vollständige Verlust von Ascorbinsäure in allen Proben, die noch zusätzlich Citronensäure enthielten (Abb.23,24).

In allen anderen nur mit dem Antioxydans versetzten Mischungen blieb dieses nach der gleichen Lagerungszeit zu einem Teil noch erhalten. Eine Ausnahme machte lediglich die Tomatenmischung $T + L + 0,15 V_C$. Die Bildung der Reduktone ist bei allen untersuchten Mischungen anfangs gering, nimmt dann aber im Laufe der Lagerungszeit stärker zu. Wie eine Betrachtung der Tabellen 22 und 24 zeigt, steht die Bildung von Reduktonen in einem annähernd direkten Verhältnis zur Menge der beiden Mischungen zugesetzten Säuren (V_C und Cl). Weitaus am größten war die Reduktonbildung in den Mischungen $K + L + 1,1 V_C + 1,0 Cl$ bzw. $T + L + 1,1 V_C + 1,0 Cl$ (Tabelle 22; Abb.25). Damit stehen unsere Untersuchungsergebnisse im Einklang mit Arbeiten von DUBOURG u. Mitarb. [17] über H^+ -Ionen katalysierte Reduktonbildung zwischen Zuckern und Aminosäuren.

Abschließend kann gesagt werden, daß die dünnschichtchromatographische Abtrennung von Ascorbinsäure und die daran anschließende quantitative Bestimmung überall dort erfolgreich ist, wo Ascorbinsäure zusammen mit ihrer ebenfalls antiskorbutisch wirksamen Dehydroform in solchen Naturprodukten vorliegt, die daneben noch reduktionartige Substanzen enthalten bzw. ihre Entstehung durch Lagerungs- oder Erhitzungsprozesse erwarten lassen. Im Gegensatz zu den relativ schnell ausführbaren Bestimmungen nach den bekannten titrimetrischen Oxydo-Reduktionsverfahren erfordert die Durchführung der DSC-Methode allerdings einen wesentlich größeren Zeitaufwand.

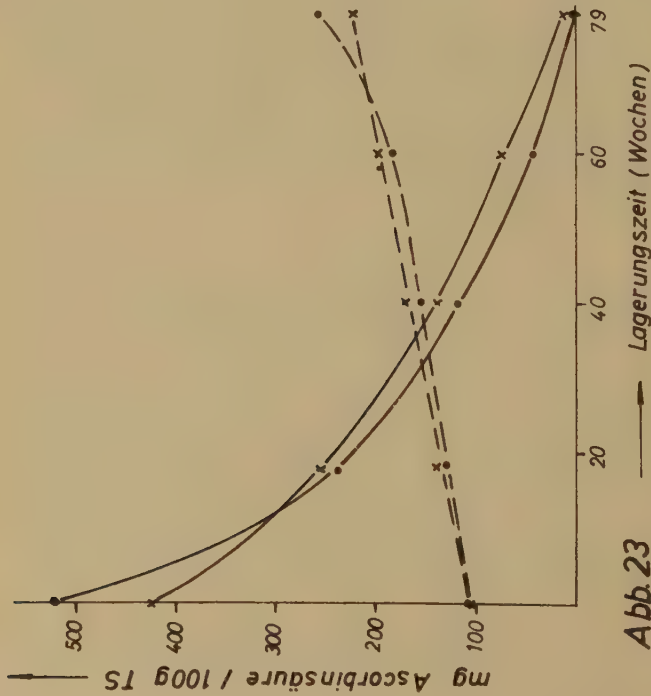


Abb. 23

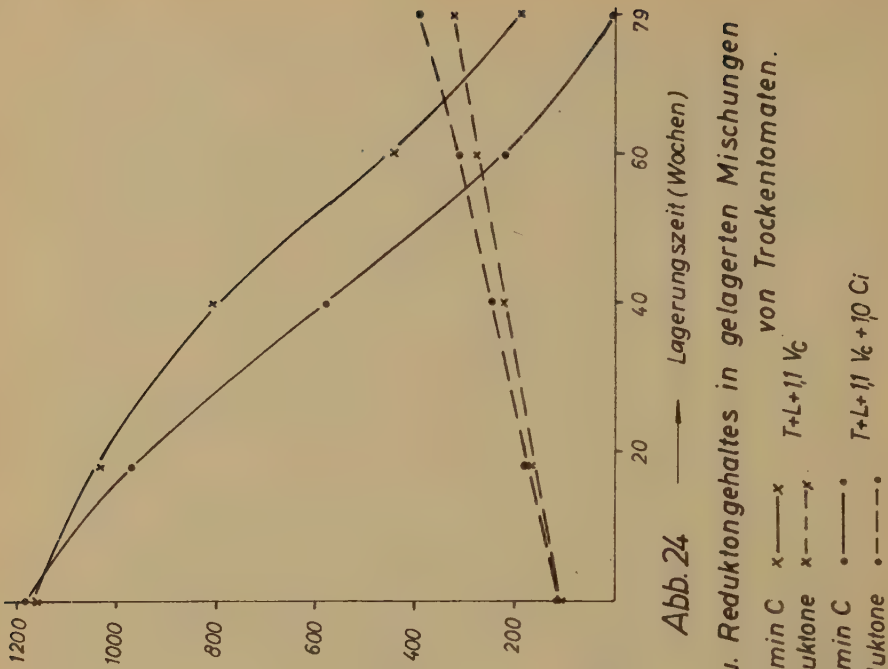


Abb. 24

Änderungen des Ascorbinsäure- u. Reduktongehaltes in gelagerten Mischungen von Trockentomataten.

x — x Vitamin C
 x — x Reduktone
 • — • Vitamin C
 • — • Reduktone

T+L+0,35 Vc

T+L+0,45 Vc+0,25 Ci

T+L+1,1 Vc

T+L+1,1 Vc+1,0 Ci

Änderung von Vitamin-C und Reduktionen in gelagerten Mischungen von Trockenkarotten

Tabelle 21

Untersuchungs- material	Vitamin-C					Ab- nahme in % gegen- über Kl. 0	Reduktone					Zu- nahme in mg gegen- über Kl. 0				
	Lagerzeit [Wochen]						Lagerzeit [Wochen]									
	0	18	40	60	79	0	18	40	60	79	0	18	40	60	79	
	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4	
	mg Ascorbinsäure/100g TS					mg Ascorbinsäure/100g TS					mg Ascorbinsäure/100g TS					
K+L	0	0	0	0	0	0	4	7	11	17	31	4	7	11	17	31
K+L+0,35 V _C	357	230	141	78	25	93,0	4	16	30	45	57	4	16	30	45	57
K+L+0,35 V _C +0,25 C ₁	365	276	187	97	0	100	4	12	25	42	75	4	12	25	42	75
K+L+1,1 V _C	1113	698	476	248	119	89,4	5	31	59	89	108	5	31	59	89	108
K+L+1,1 V _C +1,0 C ₁	1127	875	682	449	11	99,0	4	35	64	97	151	4	35	64	97	151

Änderung von Vitamin-C und Reduktonen in gelagerten Mischungen von Trockentomaten

Tabella 23

Untersuchungs- material	Vitamin-C						Ab- nahme in % gegen- über Kl. 0	Reduktone						Zu- nahme in mg gegen- über Kl. 0							
	Lagerzeit [Wochen]							Lagerzeit [Wochen]													
	0	18	40	60	79		0	18	40	60	79	0	18	40	60	79	0	18	40	60	79
	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4		Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4	Kl. 0	Kl. 1	Kl. 2	Kl. 3	Kl. 4
	mg Ascorbinsäure/100g TS																				
T+L	65	35	14	3	0	100	105	110	128	144	158	53									
T+L+0,15 V _C	225	137	55	0	0	100	104	123	142	160	175	71									
T+L+0,35 V _C	429	256	140	75	11	97,7	105	140	171	197	222	117									
T+L+0,45 V _C +0,25 C ₁	521	239	122	47	0	100	106	128	148	180	258	152									
T+L+1,1 V _C	1170	1030	805	447	180	84,6	109	171	222	275	314	205									
T+L+1,1 V _C +1,0 C ₁	1185	970	578	216	0	100	112	178	239	300	398	286									

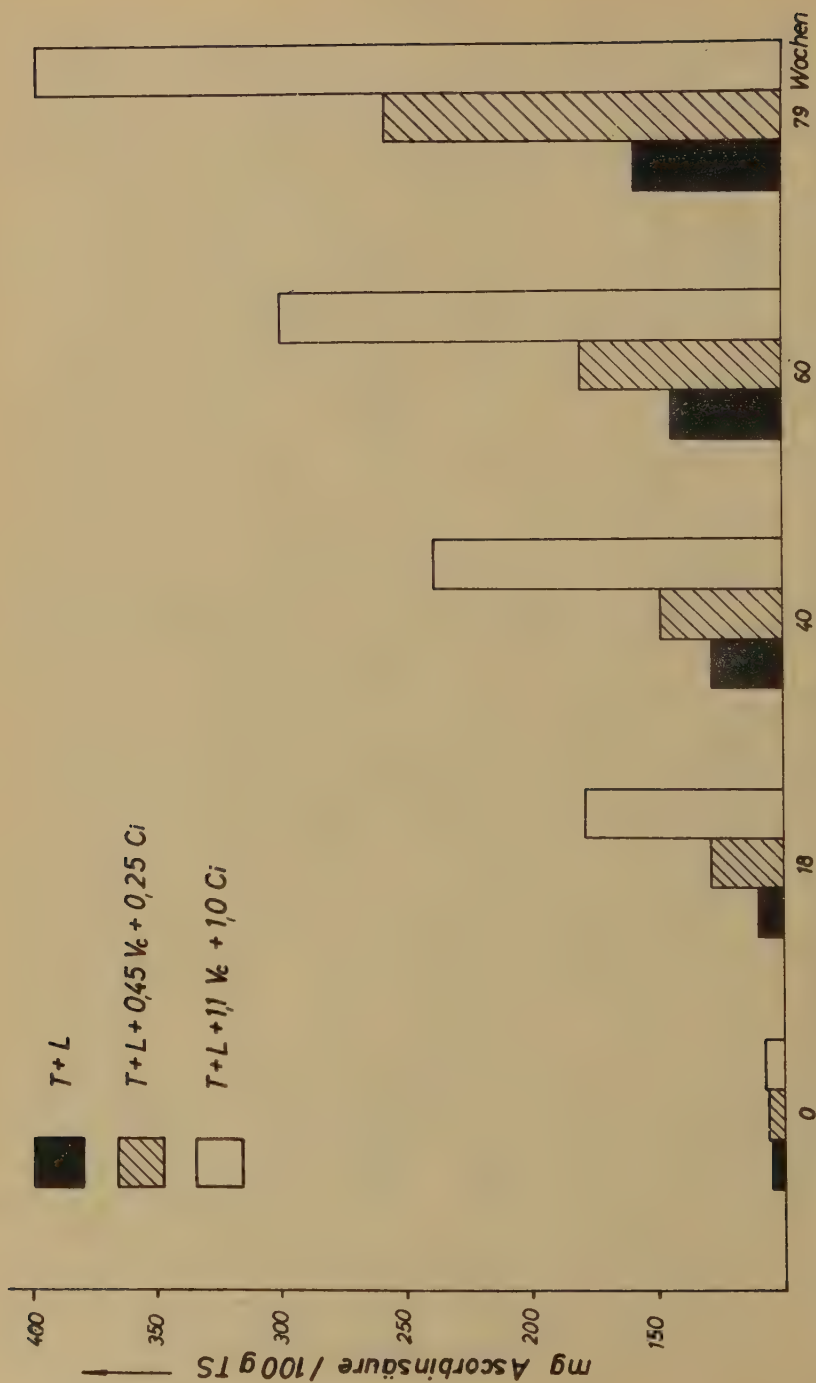


Abb. 25 Bildung von Reduktionen in verschiedenen gelagerten Mischungen von Trockentomaten

F. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von gebräuchlichen Antioxydantien wie Ascorbinsäure, Vitamin E, Antioxydans Roche und Citronensäure als Synergisten auf das Verhalten von Lebensmittelgemischen während der Lagerung von 1 1/2 Jahren bei 30 °C und 70 % relativer Luftfeuchtigkeit untersucht. Grundmischungen von Trockenkarotten und -tomaten in Verbindung mit 5 % Lysin wurden die genannten Antioxydantien mit teilweise verschiedenem Gehalt zugesetzt.

Als Intermediärprodukt der nichtenzymatischen Bräunungsreaktion konnte 5-Hydroxymethylfurfurol (HMF) in gelagerten Trockentomaten und -karotten papierchromatographisch nachgewiesen werden. Die Identifizierung als 2,4-DNP-Hydrazon und durch Messung der Absorptionskurve im UV-Bereich wurde beschrieben.

Zur Bestimmung von Ascorbinsäure und Reduktonen nebeneinander wurde auf Grund von Versuchen mit definierten Reduktonen als Modells-substanzen ein analytischer Trennungsgang ausgearbeitet, der die dünnschichtchromatographische Abtrennung des 2,4-DNP-Hydrazons von Ascorbinsäure in seiner Dehydroform und die vorausgehende Oxydation der Ascorbinsäure mit Brom zur Grundlage hat. Dadurch war es möglich, das Verhalten von Vitamin-C und Reduktonen im vorliegenden Untersuchungsmaterial während der Lagerung bilanzanalytisch getrennt verfolgen zu können.

Sowohl an den Grundmischungen als auch an den mit den genannten Antioxydantien (einschließlich Citronensäure) versetzten Mischungen wurden Veränderungen von folgenden Einzelkomponenten quantitativ erfaßt: Lysin, Gesamtsäure, wasserlösliche Bräunung, Hydroxymethylfurfurol (HMF), Lycopin, Ascorbinsäure, Reduktone und Wassergehalt.

Bis auf eine Hemmung der Lysinzerstörung während der Lagerung hatten Vitamin-E und Antioxydans Roche der gewählten Konzentration weder einen negativen noch einen positiven Einfluß auf die Veränderungen der untersuchten Einzelkomponenten. Die mit diesen beiden Antioxydantien versehenen Proben verhielten sich

ähnlich denen der jeweiligen Grundmischung.

Zusätze von Ascorbinsäure sowie in Verbindung mit Citronensäure intensivierten gegenüber den betreffenden Grundmischungen folgende Veränderungen: Verstärkte Bildung von HMF, bräunender Inhaltsstoffe und Reduktionen bzw. größere Zerstörungen von Lysin und Lycopin während der Lagerung. Dabei standen die Veränderungen in einem annähernd direkten Verhältnis zur zugesetzten Menge von Antioxydants und Synergist. Citronensäurehaltige Proben zeigten eine schnellere Zerstörung der Ascorbinsäure.

Feuchtigkeitsgehalt und Gesamtsäure nahmen während der Lagerung in allen Proben zu. Zwischen der Bildung von HMF und derjenigen von Bräunungsprodukten konnte bilanzanalytisch ein direkter Zusammenhang festgestellt werden. Die Veränderungen der untersuchten Einzelkomponenten waren in den Mischungen von Trockentomaten beträchtlich größer als in den entsprechenden Proben der Trockenkarotten.

Als Ergebnis der Untersuchungen über den Einfluß von verschiedenen Antioxydantien auf das Verhalten von 2 gewählten Trockengemischen vorgegebener Zusammensetzung kann festgestellt werden, daß unter den gewählten Beimischungsbedingungen keines der geprüften Antioxydantien eine antioxygene Wirkung entfaltet. Während Vitamin-E und Antioxydants Roche im allgemeinen ohne Einfluß auf das Untersuchungsmaterial blieben, kann die Wirkung von Ascorbinsäure und Citronensäure vielmehr als pro-oxygen bezeichnet werden, da die Veränderungen an diesen betreffenden Proben im Sinne der nichtenzymatischen Bräunungsreaktion begünstigt wurden.

Es ist beabsichtigt, in kommenden Untersuchungen die in Rede stehenden Antioxydantien und Synergisten vor der Trocknung verschiedenen Produkten beizugeben, da auf diesem Wege eine günstige Wirkung dieser Stoffe zu erwarten ist.

L i t e r a t u r

- [1] MAILLARD, L.C.; Compt.rend. 154, 66 (1912)
" " Ann.Chim. 5, 258 (1916)
- [2] ELLIS, G.P.; Adv.Carbohydrates 14, 63 (1959)
- [3] HEYNS, K. u. H. PAULSEN; Wiss.Veröff.Dtsch.Ges.Ernähr.
5, 15 (1960)
- [4] SPECK, J.C.; Contributions of Browning Res. to Ration
Item Stability, S.29, Chicago; Food and
Container Institute, Inc. 1952
- [5] HODGE, J.E.; J.Agric.Food Chem. 1, 928 (1953)
- [6] STADTMAN, E.R.; Adv. in Food Res. 1, 325 (1948)
- [7] COLLON, G.; Ann.Technol.agric. 11(2), 167 (1962)
- [8] GOTTSCHALK, A.; S.M.Partridge; Nature 165, 684 (1950)
- [9] GOTTSCHALK, A.; Biochem.J. 52, 455 (1952)
- [10] HODGE, J.E., C.E. RIST; J.Amer.Chem.Soc. 75, 316 (1953)
- [11] HEINTZE, K.; Deut.Lebensm.Rundsch. 51, 69 (1955)
- [12] RICHARDS, E.L.; Biochem.J. 64, 639 (1956)
- [13] KOPPANYI, T., A.E. VIVINO, F.P. VEITCH; Science 101,
541 (1945)
- [14] DULKIN, S.J., T.E. FRIEDEMANN; Food Res. 21, 519 (1956)
- [15] HODGE, J.E.; ref.u.komment., H. LÜERS u. H. TRAITTEUR;
Schweiz.Brauerei-Rdsch. 65, 35 (1954)
- [16] V. EULER, H. u. R. EISTERT; Chemie u.Biochemie der Re-
duktone u.Reduktonate, Verl.Enke, Stuttgart 1957
- [17] DUBOURG, J., P. DEVILLERS; Bull.Soc.chim. Fr. 603 (1962)
" " Ber.ges.Physiol.exp.Pharma-
kol. 242(3), 204 (1963)
- [18] ENDERS, C.; Kolloidzeitschrift 85, 74 (1938)
- [19] TRAITTEUR, H.; Brauwissenschaft 9, 153 (1951)
- [20] SCHORMÜLLER, J., H. BALLSCHMIETER; Deut.Leb.Rund.
17, 119 (1951)
- [21] LEA, C.H.; Food Ind.South Africa 6, 35 (1953)
- [22] MIERS, J.C., F.C. WONG, W.C. DIETRICH; Food Technol.
12, 542 (1958)

- [23] ROSS, I.; Milchwissenschaft 14, 579 (1959)
- [24] PRUTHI, J.S.; Food Science 10 (1960)
- [25] SCOTT, F.; Food Res. 25, 484 (1960)
- [26] LUH, B.S.; Food Technol. 14, 173 (1960)
- [27] PONTING, J.D., D.W. SANSHUK u. J.E. BREKKE, Food Res. 25, 471 (1960)
- [28] ANET, E.F. L.J., T.M. REYNOLDS; Austr.J.Chem. 10, 182 (1957)
- [29] LEWIS, V.M., W.B. ESSELEN u. C.R. FELLERS; Ind.Engng. Chem. 41, 2591 (1949)
- [30] POEL, G.H.; Voeding 17, 452 (1956)
- [31] TÄUFEL, K., H. IWAINSKY, H. BERGNER; Ernährungsforsch. 1, 704 (1956)
- [32] " " " " 1, 714 (1956)
- [33] " " " " 1, 719 (1956)
- [34] " , H. RUTTLOFF u. R. FRIESE; " 3, 536 (1958)
- [35] " , K. ROMMINGER u. J. RUDOLPH; " 3, 373 (1958)
- [36] ENDERS, C.; Wochenschrift f.Brauerei 98 (1943)
- [37] KOCH, J., R. KLEESAAT; Deut.Leb.Rund. 55, 246 (1959)
- [38] CRAIG, J.C., N.C. ACETO u. E.S. DELLA MONICA; J.Dairy Sci. 44, 1827 (1961)
- [39] KEENEY, M., R. BASSETTE; J.Dairy Sci. 42, 945 (1959)
- [40] PRUTHI, J.S., L.J. SINGH, GHIRDARI LAL; Food Science 9, 7 (1960)
- [41] TELEGDY KOVATS, L.; MTA Kem.Tud.Oszt.Közl. 5, 89 (1954)
- [42] FRANZKE, Cl., H. IWAINSKY; Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel 58, 859 (1956)
- [43] HAIS, J.M., K. MACEK; Handbuch der Papierchromatographie Bd.I, VEB Fischer Verlag, Jena 1958
- [44] FIEHE, J.; Z.Unters.Lebensmittel 56, 200 (1928)
- [45] WEISS, F.; " " " 58, 320 (1929)
- [46] BRADY, O.L., C.V. ELSMIE; Analyst. 52, 77 (1926)

- [47] JONES, L.A., J.C. HOLMES, R.B. SELIGMAN; Anal.Chem.
28, 191 (1956)
- [48] SCHORMÜLLER, J., W. ANDRÁSS, H.-J. LANGE u. K.-H. MÜLLER;
Z.Lebensmitt.-Unters.u.-Forsch. 117, 379 (1962)
- [49] GALE, E.F.; Biochem.J. 38, 232 (1944)
" " " " 39, 46 (1945)
" " Advanc.Enzymol. 6, 1 (1946)
" " Eiweißforsch. 1, 145 (1948)
- [50] SCHORMÜLLER, J., K.-H. MÜLLER; Z.Lebensmitt.-Unters.u.
-Forsch. 118, 485 (1962)
- [51] SABALITSCHKA, Th., J. MARGGRAFF; Dtsch.Lebensmittel-
Rdsch. 44, 32 (1948)
- [52] ROE, J.H., M.J. OESTERLING; J.biol.Chem. 152, 511 (1944)
- [53] FUJITA, A., IWATAKE; Chem.-physik.Vitaminbest.-methoden
v.F.Gstirner, S.154, 4.Aufl., Enke Stuttgart (1951)
- [54] SZEKERES, L., E. SUGAR, E. PAP; Z.analyt.Chem.
163, 32 (1958)
- [55] TILLMANN, J.; Z.Lebensmitt.-Unters.u.-Forsch.
63, 276 (1932)
- [56] HODGE, J.E.; United States Patent Office 2, 936, 308,
Patented May 10 (1960)
- [57] GYÖRGYI, P.; Vitamin Methods, Academic Press;
Publishers New York, Volume I, 274 (1950)
Volume II, 363 (1951)
- [58] MARSH, M.M., W.W. HILZY; Anal.Chem. 24, 274 (1952)
- [59] GSTIRNER, F.; Chem.-phys.Vitaminbest.meth., 4.Aufl.,
Enke Stuttgart (1951)
- [60] HAUSHEER, W., H. MOOR, S. NOBILE; Vitaminbest.in Lebensm.
mit chem.-physik.Meth.; Schweiz.Lebensm.buch,
5.Aufl., 1.Band (1960)
- [61] STROHECKER, R., H. PIES; Z.Lebensm.-Unters.u.-Forsch.
118, 394 (1962)
- [62] GÖRNHARDT, L.; Fette,Seifen,Anstrichmittel
57, 270,429 (1955)
- [63] LEA, C.H., R.S. HANNAN; Biochemica et Biophysica acta
4, 518 (1950)
- [64] SENTHESHANMUGANATHAN, S. u. A.A. HOOVER; Biochem.J.
68, 621 (1958)

- [65] SCHORMÜLLER, J., W. ANDRÄSS; Z.Lebensm.-Unters.u.-Forsch.
118, 112 (1962)
- [66] SCHORMÜLLER, J., H.-J. LANGE; Z.Lebensm.-Unters.u.
-Forsch. 118, 116 (1962)
- [67] DULKIN, S.J. u. T.E. FRIEDEMANN; Food Res. 21, 512 (1956)
- [68] WEYGAND, F.; Chem.Ber. 73, 1259 (1940)
- [69] LENTO, H.G., J.C. UNDERWOOD u. C.O. WILLITS; Food Res.
25, 750 (1960)
- [70] HODGE, J.E., C.E. RIST; J.Amer.chem.Soc. 74, 1494 (1952)
- [71] SCHORMÜLLER, J., H.-J. LANGE; Z.Lebensm.-Unters.u.
-Forsch. 118, 214 (1962)
- [72] SCHUPHAN, W.; Gemüsebau auf ernährungswissenschaft-
licher Grundlage, Keune, Hamburg, S.76 (1948)
- [73] VILLARREAL, F., B.S. LUH u. S.J. LEONARD; Food Technol.
14, 176 (1960)
- [74] BRADLEY, D.B.; J.agric.Food Chem. 8, 232 (1960)
- [75] LUH, B.S., S.J. LEONARD u. G.L. MARCH; Food Technol.
12, 347 (1958)
- [76] TRIFIRO, E.; Ind.Conserve (Parma) 36, 414 (1961)
- [77] DIEMAIR, W., E. JURY; Z.Lebensm.-Unters.u.-Forsch.
113, 189 (1960)
- [78] SCHEUNERT u. RESCHKE; Vit.u.Horm. 1, 292 (1941)
- [79] KROKER; Milchw.Forsch. 19, 158 (1938)
- [80] KRÖNER, LAMEL u. SATTELBERG; Vorratspfl.; Leb.-Forsch.
4, 526 (1943)
- [81] DIEMAIR, FRESENIUS u. ARNOLD; Vit.u.Horm. 3, 206 (1942)

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom
September 1961 bis Oktober 1963 am Institut für Lebens-
mittelchemie und -Technologie der Technischen Universi-
tät Berlin angefertigt.

Dem Direktor des Instituts,
Herrn Prof. Dr.-Ing. J. Schormüller, bin ich für die Unter-
stützung und Förderung dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die
Bereitstellung finanzieller Mittel zur Durchführung der
Arbeit und für die Gewährung eines Stipendiums.

Lebenslauf

Am 29.8.31 wurde ich als Sohn des Diplom-Landwirts und Lebensmittelchemikers Karl Müller und seiner Ehefrau Margarete Müller in Simmern (Hunsrück) geboren. Bald nach meiner Geburt zogen meine Eltern nach Halle (Saale), wo ich 1938 zur Volksschule kam und 1942 auf die spätere Thomas-Münzer-Oberschule überwechselte. Nach bestandnem Abitur im Sommer 1950 arbeitete ich 1 Jahr lang in einem Kunstfaserlaboratorium der Filmfabrik Agfa Wolfen. Im gleichen Werk absolvierte ich an der Chemiefachschule vom Oktober 1951 bis Februar 1954 eine Ausbildung als Laborant.

Nach einer jeweils kurzzeitigen Tätigkeit als Laborant in Wolfen und Halle/S. begann ich im Herbst 1954 das Studium der Chemie an der Technischen Universität Berlin. Während dieses Studiums war es mir möglich, meine musischen Interessen zu pflegen und durch Studienaufenthalte in mehreren Städten Italiens meine italienischen Sprachkenntnisse vertiefen zu können. Im August 1961 beendete ich das Chemiestudium mit dem Grad des Diplom-Ingenieurs und begann unmittelbar danach im Institut für Lebensmittelchemie und -Technologie der TU Berlin die hier vorliegende Dissertation, die ich im Oktober 1963 abschließen konnte.

